UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1932-1933. *N° 15.*

DES MODIFICATIONS DU CONTINGENT GLUCIDIQUE DE QUELQUES ORGANES VÉGÉTAUX

sous l'influence des vapeurs de Chloroforme, d'Ether et de Benzène

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de

Docteur de l'Université de Paris

(Pharmacie)

Présentée et soutenue le 23 Mai 1933.

PAR

Maurice POUSSET,

PHARMACIEN DE LA FACULTÉ DE PARIS,
ANCIEN INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS.

JURY { MM. Em. PERROT, Président.
A. GORIS, Professeur.
M. MASCRÉ, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER
IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME.

1933

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552815_0111

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1932-1933. *N° 15.*

DES MODIFICATIONS DU CONTINGENT GLUCIDIQUE DE QUELQUES ORGANES VÉGÉTAUX

sous l'influence des vapeurs de Chloroforme, d'Ether et de Benzène

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de

Docteur de l'Université de Paris

(Pharmacie)

Présentée et soutenue le 23 Mai 1933.

PAR

Maurice POUSSET,

PHARMACIEN DE LA FACULTÉ DE PARIS,
ANCIEN INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS.

JURY { MM. Em. PERROT, Président.
A. GORIS, Professeur.
M. MASCRÉ, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER
IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME.

1933

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. P. Guérin, Doyen, ✻, ✪ I.
P. Lebeau, Assesseur, O. ✻, ✪ I.
P. Desport, Secrétaire, ✻, ✪ I.

PROFESSEURS

Guérin, ✻, ✪ I.....	Botanique générale.
Béhal, Membre de l'Institut, G. O. ✻, ✪ I.....	Chimie organique.
Perrot, O. ✻, ✪ I.....	Histoire naturelle des Médicaments.
Coutière, O. ✻, ✪ I.....	Zoologie.
Lebeau, O. ✻, ✪ I.....	Pharmacie chimique.
Bougault, ✻, ✪ I.....	Chimie analytique.
Goris, ✻, ✪ I.....	Pharmacie galénique.
Tassilly, O. ✻, ✪ I.....	Physique.
Damiens, ✻, ✪ I.....	Chimie minérale.
Hérissey, O. ✻, ✪ I.....	Chimie biologique.
Sommelet, ✻, ✪ I.....	Hydrologie et Hygiène.
Lutz, ✻, ✪ I.....	Cryptogamie et Microbiologie.
Fabre, ✪ I.....	Toxicologie.
Launoy, O. ✻, ✪ I.....	Professeur sans chaire.

Doyen honoraire : Radais, O. ✻, ✪ I.

Professeurs honoraires : MM. Delépine, O. ✻, ✪ I., Guerbet, ✻, ✪ I. et Radais, O. ✻, ✪ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. Marc Honnorat, ✻, ✪ I....	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
Launoy, O. ✻, ✪ I.....	Pharmacodynamie.
Delaby, ✻, ✪ I.....	Minéralogie.
Bach, ✪ I.....	Microbiologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. Delaby, ✻, ✪ I.	MM Mascré, ✪ I.	MM. Bedel, ✪ I.
Picon, ✪ I.	Fleury, ✪ I.	Régnier, ✪ I.
	Bach, ✪ I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. Bedel, ✪ I., *agrégé*, chargé des T. P. de 1re année.....	Chimie générale.
Fleury, ✪ I, et Régnier, ✪ I, *agrégés*, chargés des travaux de	Chimie analytique.
Souèges, ✪ I.....	Micrographie.
Leroux, ✪ I.....	Physique.
Deval, ✻, ✪ I.....	Microbiologie.
Delaby, ✻, ✪. I, Picon, ✪ I., et Mascré, ✪ I., *agrégés*,	chargés des Travaux généraux de 4e année.

Bibliothécaire en Chef : M. Bernard, ✪ I.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A Monsieur le Professeur Em. PERROT,

OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR,
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE,
DIRECTEUR DE L'OFFICE NATIONAL DES MATIÈRES PREMIÈRES VÉGÉTALES.

Qui a bien voulu accepter la présidence
de mon jury de thèse,
Hommage de respect et de reconnaissance.

A Monsieur le Professeur A. GORIS,

DIRECTEUR DE LA PHARMACIE CENTRALE DES HÔPITAUX,
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

Hommage de profonde gratitude.

A Mon Maitre dans les Hôpitaux,

Monsieur le Professeur agrégé M. MASCRÉ,

pharmacien-chef de l'hôpital lariboisière.

Hommage de profonde reconnaissance.

A MES PARENTS,

En témoignage de respect et d'affection

A MES AMIS.

INTRODUCTION.

On sait que sous diverses influences : anesthésie, gel, rayons ultra-violets, lumière polarisée, les glucosides contenus dans les tissus végétaux sont plus ou moins rapidement dédoublés, toujours plus rapidement qu'au cours de la dessiccation normale.

A ce sujet, de nombreux travaux ont été publiés. Nous rappellerons ici les plus importants.

C'est d'abord L. Guignard [33] qui, en 1909, constata que l'action des vapeurs de chloroforme sur des plantules entières de Moutarde noire déterminait la production de l'essence sulfurée, reconnaissable à son odeur. Une expérience analogue faite sur le Raifort donna les mêmes résultats. Guignard obtint également un dégagement d'acide cyanhydrique en faisant agir les vapeurs de chloroforme sur des plantes à glucosides cyanhydriques (Laurier-Cerise, *Photinia*, Sorgho, Passiflore), et un dégagement de salicylate de méthyle en répétant la même expérience sur le *Gaultheria procumbens* L.

En examinant au microscope les tissus soumis aux vapeurs anesthésiques, Guignard constata que les cellules avaient subi la plasmolyse ; leur sac protoplasmique était détaché de la membrane cellulaire et plus ou moins contracté. Il y avait là l'explication du phénomène puisque, au cours de la plasmolyse, les sucs cellulaires se mélangeant, les principes glucosidiques et les ferments, localisés dans des cellules différentes, se trouvent mis en contact.

D'autre part, c'est un fait bien connu que le gel détermine un appel d'eau en dehors des cellules végétales. Guignard pensa que, s'il en était ainsi, le gel produirait le même effet que l'anesthésie. En effet, une feuille de Raifort, soumise au refroidissement par du chlorure de méthyle pulvérisé à sa surface, prit le même aspect que sous l'influence du chloroforme.

Mirande [56] répéta les expériences de son maître Guignard et constata que, sous l'influence des vapeurs dégagées par les substances qui, d'ordinaire, suspendent la fonction chlorophyllienne, les plantes qui contiennent des principes cyanogénétiques exhalent de l'acide cyanhydrique.

Le même auteur [57] essaya ensuite l'action de nombreux composés organiques sur le Laurier-Cerise, pour voir s'ils provoquaient le dégagement d'acide cyanhydrique. Après de nombreux essais avec les hydrocarbures et leurs dérivés, les alcools, les phénols, les acides, les éthers, les aldéhydes, les cétones, les amines, les amides, les nitriles, Mirande constata que certains de ces corps faisaient dégager l'acide cyanhydrique et brunissaient la feuille, et que d'autres faisaient brunir la feuille sans toutefois causer de dégagement d'acide cyanhydrique.

Au même moment, E. Heckel [34, 36] constatait des phénomènes de plasmolyse en faisant agir le froid et les anesthésiques sur des plantes à coumarine (*Anthoxanthum odoratum, Liatris odoratissima* et *spicata, Angræcum fragrans, Eupatorium triplinerve, Melilotus officinalis*). Ces phénomènes se traduisaient par une odeur de coumarine dégagée par la plante traitée par le chloroforme ou l'éther.

Heckel [35] constata également que, sous l'influence du chloroforme, les gousses de Vanille mûres dégageaient une odeur de vanilline, mais que le froid agissant sur les gousses n'amenait pas le même phénomène.

L. Maquenne et E. Demoussy [49, 50], dans deux communications faites à peu d'intervalle à l'Académie des

Sciences, établirent que le noircissement des feuilles et, plus généralement, les changements de pigmentation qui s'observent sur les plantes exposées à la lumière directe de l'arc électrique sont exclusivement dus à la prédominance dans cette lumière des rayons ultra-violets. Ils sont la conséquence de la mort du protoplasma et non l'effet immédiat de l'insolation électrique. Ce noircissement des feuilles a également lieu sous toutes les influences qui déterminent la mort du protoplasma ou mieux le mélange des sucs cellulaires (chloroformisation, chaleur, broyage mécanique). Ce phénomène est la résultante d'actions diastasiques. Dans ces expériences, L. Maquenne et E. Demoussy opérèrent sur des feuilles de Figuier, de *Dahlia*, d'*Aucuba*, de Troène, de Lierre.

Les mêmes auteurs [49] concluent que le noircissement post-mortal des feuilles, phénomène commun, rentre en général dans le cadre des actions diastasiques, mais que, quelquefois, le noircissement est d'ordre purement chimique, sans le secours d'aucun enzyme.

P. Guérin [28], en 1910, dans un article de la *Revue scientifique*, passe en revue les travaux faits jusqu'à ce jour sur le noircissement des feuilles. L'auteur conclut aussi que le noircissement est dû dans la plupart des cas à des actions diastasiques, mais il peut arriver que le noircissement s'effectue sans le concours d'aucune diastase et qu'il ait une origine purement chimique. « De toute façon », dit P. Guérin, « que le noircissement des feuilles soit d'origine diastasique ou non, il procède d'un mécanisme absolument comparable à celui qui donne lieu aux principes odorants des Crucifères et des plantes à acide cyanhydrique, et à la coumarine ».

En 1920, Guérin, en collaboration avec Lormand [31, 32] maintint de l'*Aucuba* et du Laurier-Cerise en pots dans une atmosphère à 1/2000 de chlore, de palite, de bromacétone, de chloropicrine ou d'ypérite pendant 1 ou 2 heures. Les feuilles tombèrent et mou-

rurent, par suite de plasmolyse. Les feuilles d'*Aucuba* noircirent et les feuilles de Laurier-Cerise dégagèrent de l'acide cyanhydrique. Cependant, les plantes, après un temps plus ou moins long finirent par reprendre leur végétation normale.

Guérin [29] reprit ensuite les corps essayés par Mirande et dans certains cas ne se trouve pas d'accord avec lui en ce qui concerne leur action sur les plantes.

En 1920, Guérin et Goris [30] découvrirent une nouvelle plante à coumarine : *Melittis Melissophyllum* L., chez laquelle l'emploi des anesthésiques dégage l'odeur de coumarine.

En 1922, J. Pougnet [64] confirma les résultats de E. Heckel en ce qui concerne l'action des rayons ultra-violets sur les plantes. Il constata que les feuilles exposées à la lumière ultra-violette noircissaient et que, dans toutes les plantes à glucosides, il y avait dédoublement du glucoside et apparition du pouvoir réducteur ; que ces résultats étaient comparables à ceux obtenus par l'action du chloroforme et de l'éther sur les mêmes plantes.

Enfin, l'action de la lumière polarisée sur les plantes a été étudiée par E. S. Semmens [68], qui constata que, si l'on soumet des plantes à la lumière polarisée, l'amidon et les produits tels que les glucosides qu'elles contiennent disparaissent.

En plus de leur action sur les plantes adultes, l'action des agents physiques et chimiques sur les graines en germination a fait également l'objet de nombreux travaux :

Tout d'abord, parmi les agents physiques, les rayons X ont été employés. H. Micheels et P. de Heen [54] concluent que, sous l'influence du radium, l'énergie respiratoire des graines en germination est ralentie. M. Koernicke [44, 45] conclut que l'action prolongée des émanations de radium sur les graines entrave la germination. G. Nadson et A. Jolkevitch [58] concluent dans

le même sens, en ajoutant que l'action du radium peut être renforcée par certains agents chimiques.

S. Ancel [1], C. Picado et E. Vincente [61], K. Wernhart [73] ont étudié également l'action des rayons X sur la germination des graines.

D'après D. Macht [48], la lumière polarisée a une influence favorable sur les graines de Lupin, qui germent mieux et croissent plus vite que celles soumises à la lumière simple.

E. Kommerell [46], faisant agir diverses radiations du spectre à intensité égale sur des graines de *Lythrum Salicaria*, de *Nicotiana Tabacum*, constate que le pourcentage des germinations est directement proportionnel aux longueurs d'ondes.

Enfin, J. Pougnet [64], étudiant l'action de radiations ultra-violettes sur les graines en germination, conclut à leur action favorable, si l'exposition est courte, et à la destruction du pouvoir germinatif si l'exposition est prolongée.

En ce qui concerne les agents chimiques, de très nombreux corps ont été essayés : Nous nous contenterons de citer les travaux de Th. Bokorny [5, 6], V. Arcichovskij [2], F. Kidd [43], E. Miège [55], A. Niethammer [59], K. Wientjes [74], A. Piskernik [62], W. N. Atwood [3], O. Hesse [40], M. Popoff, [63], Radoeff [66, 67]. D'après ces auteurs, certains corps entravent la germination, d'autres la favorisent.

Enfin, nous dirons ici quelques mots des travaux sur le forçage des plantes :

Les procédés employés pour le forçage consistent à traiter la plante ou la graine par un agent approprié pendant un temps assez court, et à remettre ensuite la plante ou la graine dans les conditions normales. Ces procédés ont pour but d'activer le développement de la plante ou la germination de la graine.

Fr. Weber [72] donne une méthode de forçage qui consiste à placer les plantes pendant le repos hivernal dans une atmosphère de chloroforme ou d'éther pen-

dant 24 à 48 heures, et à replacer ensuite les plantes dans les conditions normales pour qu'elles se développent.

Fr. Jesenko [42] donne une autre méthode de forçage qui consiste à injecter aux plantes en période de repos de l'éther dilué ou de l'alcool dilué.

Nous citerons encore, avec quelques détails les travaux de F. E. Denny [22, 23, 24, 25], qui étudia le forçage des tubercules de Pomme de terre avec de très nombreux produits, et qui, surtout, a étudié au point de vue chimique les modifications qui se produisent dans les tubercules forcés par rapport à des tubercules normaux.

La technique employée par Denny est la suivante :

Le suc de Pomme de terre est exprimé et épuisé par l'alcool à 70°. On évapore et on reprend par l'eau. On dose par réduction le sucre avant et après inversion. L'inversion est réalisée par les acides à froid.

L'amidon est dosé de la façon suivante : Des fragments de tissus sont mis à bouillir avec de l'alcool à 95°. Ces fragments sont ensuite séchés et pulvérisés. L'amidon est dosé dans cette poudre par hydrolyse acide et tout le sucre réducteur est évalué en amidon.

Denny a employé de nombreux corps pour hâter la germination des tubercules de Pomme de terre en période de repos, mais les dosages ont été effectués sur des tubercules ayant subi l'action des corps donnant les meilleurs résultats, à savoir : l'éthylène-chlorhydrine, le sulfocyanate de sodium et la thio-urée. L'auteur conclut que ces corps provoquent la diminution du taux de l'amidon et l'augmentation du saccharose dans les tubercules traités, par rapport aux tubercules témoins. Le traitement n'influe pas sur la teneur en sucres réducteurs.

⁂

En ce qui concerne les travaux nombreux faits sur le dédoublement des glucosides dans les plantes, on peut constater que tous les auteurs ont envisagé le phénomène au point de vue qualitatif. A notre connaissance, il n'a jamais été fait de dosage pour indiquer avec quelle rapidité et jusqu'à quel point les glucosides sont dédoublés quand on fait agir des vapeurs toxiques sur les plantes.

L'appréciation du degré d'hydrolyse des glucosides, contenus dans certaines plantes traitées par des agents chimiques sous forme de vapeur, constitue une partie de notre travail.

Nous avons d'abord fait agir : les vapeurs de chloroforme à la pression ordinaire, — le chloroforme, l'éther et le benzène en vapeur saturante sur les feuilles d'*Aucuba japonica*. Nous avons ensuite étudié l'action du chloroforme à la pression ordinaire et en vapeur saturante sur les feuilles de Troène et l'action du chloroforme en vapeur saturante sur l'écorce de Marronnier.

Mais l'action des agents chimiques sur les glucosides n'a pas seule retenu notre attention ; nous avons étudié en même temps les conséquences de leur action sur les autres glucides se trouvant dans les plantes étudiées.

De plus, cette étude sur les glucides a été étendue aux graines en germination traitées par le chloroforme en vapeur saturante.

Ces dernières expériences ont porté sur l'Orge et le Pois. Pour chaque plante il a été fait deux séries d'expériences différentes. Dans l'une de ces séries, on a fait agir les vapeurs de chloroforme pendant un temps assez long. Dans l'autre série, qui s'inspire des méthodes de forçage, les graines ont subi l'action du chloroforme pendant un temps très court et ont été remises à germer dans les conditions normales.

Les résultats se rapportant à ces dernières expériences n'ont pour but que d'ouvrir quelques vues sur une série de travaux fort intéressants, que le manque de temps ne nous a pas permis de continuer. Nous serons

trop heureux si cette modeste contribution à un très gros travail peut venir en aide aux chercheurs dans l'avenir.

Les résultats de nos recherches sont exposés dans l'ordre suivant :

Première partie : Expériences sur l'*Aucuba japonica* Thunb.

CHAPITRE I. — Composition chimique de l'*Aucuba* et détail sur la marche des expériences.

CHAPITRE II. — Action du chloroforme à la pression ordinaire.

CHAPITRE III. — Action du chloroforme en vapeur saturante.

CHAPITRE IV. — Action de l'éther en vapeur saturante.

CHAPITRE V. — Action du benzène en vapeur saturante.

CHAPITRE VI. — Dosages pondéraux d'aucuboside.

Deuxième partie : Expériences sur le Troène.

CHAPITRE I. — Composition chimique du Troène et détails sur la marche des expériences.

CHAPITRE II. — Action du chloroforme à la pression ordinaire.

CHAPITRE III — Action du chloroforme en vapeur saturante.

Troisième partie : Expérience sur l'écorce de Marronnier.

CHAPITRE I. — Composition chimique de l'écorce de Marronnier et détails sur la marche des expériences.

Chapitre II. — Action du chloroforme en vapeur saturante.

Quatrième partie : Expériences sur l'Orge.

Chapitre I. — Etude chimique de l'Orge et détails sur la marche des expériences.

Chapitre II. — Action prolongée du chloroforme en vapeur saturante.

Chapitre III. — Action brève du chloroforme en vapeur saturante.

Cinquième partie : Expériences sur les Pois.

Chapitre I. — Composition du Pois et détails sur la marche des expériences.

Chapitre II. — Action prolongée du chloroforme en vapeur saturante.

Chapitre III. — Action brève du chloroforme en vapeur saturante.

Conclusions générales.

*
**

Monsieur le Professeur Em. Perrot a bien voulu nous inscrire parmi les travailleurs de son Laboratoire et accepter la présidence de notre Thèse ; nous le prions d'agréer l'assurance de notre respectueuse gratitude.

Nous prions également Monsieur le Professeur A. Goris, qui nous a fait l'honneur de siéger dans notre jury de Thèse, de croire à nos sentiments respectueusement reconnaissants.

Notre travail a été effectué sous la direction de Monsieur le Professeur agrégé Mascré, notre Maître dans les Hôpitaux, auquel nous sommes heureux d'exprimer ici notre profonde reconnaissance et nos respectueux remerciements pour l'intérêt qu'il a toujours bien voulu nous porter.

Nous remercions sincèrement Monsieur le Docteur R. Weitz pour son infinie complaisance, et nos amis M. M. Janot et R. Paris pour les judicieux conseils qu'ils nous ont toujours généreusement prodigués.

PREMIÈRE PARTIE.

Expériences sur l'*Aucuba japonica* Thunb. (Cornacées).

CHAPITRE I.

Composition de l'*Aucuba* et détails sur la marche des expériences.

Les feuilles d'*Aucuba japonica* font l'objet de notre première série de travaux. Nous étudierons l'action du chloroforme à la pression ordinaire et en vapeur saturante, l'action de l'éther en vapeur saturante, l'action du benzène en vapeur saturante, sur les glucides contenus dans les feuilles d'*Aucuba*.

Comme on le verra, c'est seulement sur les feuilles d'*Aucuba japonica* que l'on a fait une étude comparative de l'action du chloroforme, de l'éther et du benzène.

Avant d'aborder la partie expérimentale proprement dite, nous allons donner quelques précisions sur la composition des feuilles d'*Aucuba japonica*.

Composition des feuilles d'*Aucuba japonica*.

La composition de l'*Aucuba japonica* a été étudiée par Bourquelot et Hérissey [14] qui ont extrait pour

la première fois, en 1902, un glucoside, l'aucuboside (aucubine), des graines de l'*Aucuba japonica*. L'existence de ce glucoside dans les feuilles a été également démontrée par les mêmes auteurs, en même temps que celle de sucre de canne.

L'aucuboside, étudié par Bourquelot et Hérissey [14, 15, 16] dans différents mémoires, est un glucoside se présentant en cristaux incolores, lévogyres, solubles dans l'eau et dans l'alcool chaud. L'aucuboside fond vers 181°, son pouvoir rotatoire est $[\alpha]_D = -173°1$, son indice de réduction enzymolytique est de 144.

La structure de l'aucuboside a été étudiée par divers auteurs. En 1928, T. Kariyone et K. Kondo [41] lui ont attribué comme formule brute: $C^{15}H^{24}O^9$.

Ce glucoside est hydrolysé par les acides et par l'émulsine :

a) Par les acides, le dédoublement a lieu à froid et d'autant plus lentement que l'acide est plus dilué ; on voit d'abord le liquide prendre une teinte jaune verdâtre et il se fait ensuite un précipité brun qui reste en suspension dans le liquide.

A chaud, on observe les mêmes faits, sauf qu'on perçoit une odeur aromatique provenant d'une action secondaire de l'acide sur le précipité.

Dans les deux cas, il se forme en même temps du glucose.

b) Par l'émulsine, l'action est la même que par les acides dilués. Cependant, la formation du précipité est lente à se produire.

Sous l'influence de ces agents, l'aucuboside se dédouble en donnant du glucose et un composé qui n'a pas été isolé mais dont l'existence est cependant certaine : l'aucubigénol. L'aucubigénol est incolore au moment où il se forme et reste en solution dans les liqueurs dans lesquelles se fait le dédoublement. Toutefois, sous l'influence des acides, même à froid, ou sous l'influence de la chaleur, l'aucubigénol s'altère et se résout alors en

un précipité noir. L'aucubigénol n'est pas optiquement inactif ; il est également capable de troubler l'évaluation des sucres réducteurs dans une solution où il coexiste avec eux. Comme, d'autre part, l'aucubigénol non altéré n'est pas précipitable par les sels de plomb, Bourquelot et Hérissey recommandent, quand on veut déterminer d'une façon précise à un moment donné la valeur d'un dédoublement de l'aucuboside par l'émulsine, de chauffer les liqueurs 25 à 30 minutes au bain-marie bouillant, avant de procéder à l'examen.

L'aucuboside est assez répandu dans les végétaux. En 1907, Bourdier [7] en a retrouvé dans trois espèces du genre *Plantago* ; en 1909, Hérissey et Lebas [38] en ont retrouvé dans trois espèces du genre *Garrya*. En 1923, Mlle Braecke [18, 18 bis] a montré que le noircissement des Mélampyres était dû à l'hydrolyse de l'aucuboside par l'émulsine et que l'aucuboside existait dans les tiges foliées du *Rhinanthus Crista-Galli*. La même année, M. Bridel et Mlle Braecke [20] ont montré que l'aucuboside existait de même dans les graines de Rhinanthe et dans plusieurs autres Scrofulariacées. En 1928, Charaux [21] découvrit la présence d'aucuboside dans les graines de *Veronica hederæfolia* et enfin, Bridel [19] en 1929 en découvrit dans le *Lathræa Clandestina*.

Les feuilles d'*Aucuba* renferment en outre de l'émulsine et de la lactase, l'existence de ce dernier ferment ayant été démontrée par Brachin [17].

Principe des dosages.

Au cours des expériences que nous avons faites, nous avons employé la méthode biochimique de Bourquelot [9, 10, 11, 12] dont nous rappelons la technique :

Cette méthode consiste à traiter les organes végétaux par l'alcool bouillant afin d'en détruire les ferments. Les organes sont introduits dans l'alcool à 95° bouillant, en

évitant d'interrompre l'ébullition. On opère en présence de carbonate de chaux afin de neutraliser les acides organiques présents, qui pourraient provoquer l'hydrolyse des glucides. Après une heure d'ébullition, on recueille l'alcool d'une part ; d'autre part les organes sont divisés au mortier ou au hachoir, et on les épuise à nouveau à deux reprises par l'alcool à 80°. Les liqueurs alcooliques sont réunies, puis distillées dans le vide partiel. Le résidu est repris au bain-marie par de l'eau distillée toluénée ; les liqueurs aqueuses sont réunies et complétées à un volume qui correspond généralement au poids d'organe employé. Sur une partie aliquote de cette liqueur, déféquée au sous-acétate de plomb, on détermine la déviation polarimétrique et la teneur en sucres réducteurs. Cette dernière détermination se fait par la méthode de G. Bertrand [4] et les résultats sont exprimés en glucose. On rapporte ensuite à 100 grammes d'organes.

On effectue les mêmes déterminations après action de l'invertine, puis de l'émulsine. Les modifications apportées à la déviation polarimétrique et à la teneur en sucres réducteurs permettent de constater les dédoublements dus aux ferments employés, et d'en mesurer la valeur.

On détermine ensuite à l'aide de ces résultats « l'indice de réduction enzymolytique » correspondant à chaque changement observé. Bourquelot désigne sous ce nom la quantité de sucre réducteur (calculée en glucose) formée, sous l'influence du ferment employé, pour un changement de déviation d'un degré d'arc. Ces indices permettent d'identifier, dans les cas favorables, l'holoside ou l'hétéroside présents dans les liqueurs d'expérience. A défaut d'une identification certaine, dans les cas de liqueurs complexes, ils donnent au moins une indication de grande valeur sur la nature des substances dédoublées.

Nous décrirons plus loin, en détail, une de nos expériences à titre d'exemple. Disons dès maintenant que nous n'avons pas toujours pu pratiquer nos examens polarimétriques sur des liqueurs représentant leur poids de feuilles, car ces liqueurs, même après défécation, étaient par trop colorées. Nous avons été obligé de diluer ces liqueurs jusqu'à ce que nous puissions faire une lecture polarimétrique convenable. C'est ce qui explique que certains de nos indices (voir tableaux) des sucres dédoublables par l'invertine sont éloignés de ceux du saccharose, les causes d'erreur de lecture étant multipliées. D'autre part, on verra que les indices correspondant au glucoside sont bien meilleurs ; les retours de déviation étant beaucoup plus importants, les causes d'erreur dans les lectures dues aux dilutions s'en trouvent d'autant diminuées. En ce qui concerne la détermination des sucres réducteurs, l'inconvénient des dilutions est négligeable pratiquement en raison de la grande précision de la méthode de dosage.

Détail d'une expérience.

Il importait avant tout d'avoir des lots homogènes, comparables entre eux. Nous avons toujours comparé un lot témoin et un lot soumis à l'action des agents chimiques préparés de la façon suivante.

Les deux feuilles opposées sur un rameau sont détachées en même temps et mises chacune dans un lot ; de ce fait chaque lot soumis aux agents chimiques renferme les feuilles opposées, correspondant à celles du témoin. On a ainsi des lots aussi comparables que possible entre eux. L'un des lots est soumis au traitement choisi pendant un temps déterminé, le lot témoin est abandonné pendant le même temps à l'air libre et les deux lots sont stabilisés en même temps.

Chaque lot comprend 50 grammes de feuilles qui sont stabilisées de la façon suivante : Les feuilles coupées

en morceaux sont jetées dans un litre d'alcool à 95° bouillant additionné d'une pincée de carbonate de chaux, sans interrompre l'ébullition. Après une heure d'épuisement, la liqueur bouillante est jetée sur filtre. Les feuilles sont placées dans une capsule et mises à l'étuve à 40°. Après dessiccation, les feuilles sont broyées au hachoir universel ; elles sont remises ensuite dans le ballon à épuisement avec 500 cm³ d'alcool à 80° et épuisées à nouveau à l'ébullition pendant une heure. Cet épuisement avec l'alcool à 80° est répété une deuxième fois. Les liqueurs alcooliques réunies sont ensuite distillées dans le vide partiel jusqu'à consistance sirupeuse. Le résidu est repris, au bain-marie, par de l'eau toluénée.

La liqueur aqueuse est complétée à 200 cm³ après filtration et refroidissement.

Examen direct. — La liqueur est déféquée de la façon suivante : 25 cm³ de cette liqueur sont mesurés exactement dans un ballon jaugé de 50 cm³ et additionnés de 5 cm³ de sous-acétate de plomb, puis on complète à 50 cm³ avec de l'eau distillée. On filtre ; sur le filtrat on fait l'examen polarimétrique : (1).

La déviation observée est de :

$$\rho = -\ 2°6'$$

ce qui fait pour la liqueur non déféquée :

$$\rho = -\ 4°12'$$

Le chiffre de la déviation doit être ramené maintenant à une liqueur dont 100 cm³ correspondent à 100 grammes de feuilles. Comme, ici, 200 cm³ correspondent à 50 grammes de feuilles, il faut multiplier le chiffre de AD pour la liqueur non déféquée par 4 ; d'où :

$$\rho = -\ 16°48'$$

Le sucre réducteur exprimé en glucose, dosé par la

(1) Toutes nos observations polarimétriques ont été faites au tube de *2 décimètres*.

méthode de G. BERTRAND sur 10 cm³ de liqueur déféquée est de :

5 mg.,4

Pour 200 cm³ de liqueur non déféquée la quantité de glucose est :

$$5{,}4 \times 2 \times 20 = 216 \text{ mg.}$$

et pour 100 grammes de feuilles :

$$216 \times 2 = 432 \text{ mg.}$$

Examen après invertine : La liqueur primitive a été additionnée d'invertine et mise à l'étuve à 30°, jusqu'à ce que la déviation polarimétrique ne varie plus :

25 cm³ de cette liqueur sont additionnés comme précédemment de sous-acétate de plomb, puis complétés à 50 cm³. Après filtration, on pratique l'examen polarimétrique :

$$\rho = -2°20'$$

ce qui fait pour la liqueur non déféquée :

$$\rho = -4°40'$$

et pour une liqueur dont 100 cm³ correspondent à 100 grammes de feuilles :

$$\rho = -18°40'$$

Le sucre réducteur exprimé en glucose, dosé sur 10 cm³ de liqueur, est de :

23 mg.,3

Pour 200 cm³ de liqueur non déféquée la quantité de glucose est :

$$23{,}3 \times 2 \times 20 = 932 \text{ mg.}$$

et pour 100 grammes de feuilles :

$$932 \times 2 = 1.864 \text{ mg.}$$

Recul de la déviation après invertine : 1°52'

Sucre réducteur formé sous l'action de l'invertine : 1 g.,432.

Indice de réduction enzymolytique : $\dfrac{1432 \times 60}{112} = 767$

Examen après émulsine : La liqueur primitive après action de l'invertine a été porté au bain-marie bouillant afin de détruire l'invertine. Après refroidissement, on y ajoute de l'émulsine et on laisse à l'étuve à 30° jusqu'à ce que la déviation polarimétrique reste constante.

Toutefois, avant de pratiquer les examens on porte au bain-marie bouillant afin de précipiter complètement l'aucubigénol.

Sur la liqueur, déféquée dans les mêmes conditions que précédemment, on pratique l'examen polarimétrique :

$$\rho = - 16'$$

ce qui fait pour la liqueur non déféquée :

$$\rho = - 32'$$

et, pour une liqueur dont 100 cm³ correspondent à 100 grammes de feuilles :

$$\rho = - 2°8'$$

Le sucre réducteur exprimé en glucose, dosé sur 10 cm³ de liqueur, est de :

25 mg.,7

Pour 200 cm³ de liqueur non déféquée, la quantité de glucose est de :

2.056 mg.

et pour 100 grammes de feuilles :

$$2056 \times 2 = 4112 \text{ mg.}$$

Retour de la déviation après émulsine : 16°32'

Sucre réducteur formé sous l'action de l'émulsine : 4 g.,112.

Indice de réduction enzymolytique : $\dfrac{4112 \times 60}{992} = 136$

CHAPITRE II.

Action du chloroforme à la pression ordinaire.

Ces expériences ont été pratiquées à des moments différents de l'année ; nous les qualifierons pour cela d'expériences fragmentaires. Voici comment chaque expérience a été conduite :

Deux lots de feuilles d'*Aucuba*, de même poids et aussi identiques que possible, sont obtenus en détachant en même temps les feuilles opposées sur un rameau et en mettant dans chaque lot une feuille de chaque paire. L'un de ces lots, destiné à servir de témoin, est laissé à l'air libre ; l'autre, destiné à être soumis au chloroforme, est placé, sur un tamis, au-dessus d'un cristallisoir contenant du chloroforme, dans une hotte fermée.

Les feuilles traitées noircissent sous l'influence du chloroforme.

Au bout d'un temps qui a varié avec chaque expérience, les deux lots sont stabilisés en même temps comme il a été dit précédemment.

C'est ainsi qu'au cours de ce travail quatre expériences différentes ont été faites :

Dans la première, les feuilles d'*Aucuba* ont été soumises aux vapeurs de chloroforme pendant 1/2 heure. (Expérience faite au mois de décembre).

Dans la deuxième, les feuilles d'*Aucuba* ont été sou-

mises aux vapeurs de chloroforme pendant une heure. (Expérience faite au mois de décembre).

Dans la troisième, les feuilles d'*Aucuba* ont été soumises aux vapeurs de chloroforme pendant 3 heures. (Expérience faite à la fin du mois de septembre).

Dans la quatrième, les feuilles d'*Aucuba* ont été soumises aux vapeurs de chloroforme pendant 6 heures. (Expérience faite au mois de novembre).

A chaque lot chloroformé, a toujours correspondu un témoin identique, qui a été stabilisé en même temps.

Les feuilles ont été épuisées comme il a été dit précédemment, il en a été de même des distillations et des reprises par l'eau qui ont donné des liqueurs sur lesquelles les variations des sucres et des glucosides ont été suivies à l'aide de l'invertine et de l'émulsine.

Les résultats obtenus sont condensés dans les tableaux I et II.

TABLEAU I. — Action du chloroforme à la pression ordinaire sur les feuilles d'*Aucuba japonica*.
(Chiffres ramenés à 100 cm³ de liqueur représentant 100 g. de feuilles).

	Expérience I		Expérience II		Expérience III		Expérience IV	
	Témoin 1/2 h.	$CHCl^3$ 1/2 h.	Témoin 1 h.	$CHCl^3$ 1 h.	Témoin 3 h.	$CHCl^3$ 3 h.	Témoin 6 h.	$CHCl^3$ 6 h.
DÉVIATION :								
Initiale	— 16°14'	— 7°20'	— 11°32'	— 3° 6'	— 15°40'	— 6°36'	— 13°56'	— 6°58'
Après invertine	— 13°12'	— 9°16'	— 16° 8'	— 7°42'	— 16°30'	— 7°20'	— 18°20'	— 9°54'
Après émulsine	+ 44'	— 12'	+ 44'	+ 2°12'	+ 1°22'	+ 55'	— 8°48'	— 2°44'
SUCRES RÉDUCTEURS :								
Initiaux	0 g.,326	1 g.,162	0 g.,304	1 g..72	0 g.,409	1 g.,839	0 g.,210	1 g.,476
Après invertine	1 g.,972	2 g.,636	2 g.,382	4 g.,018	2 g.,238	3 g.,194	2 g.,343	3 g.,241
Après émulsine	4 g.,326	3 g.,78	4 g.,99	5 g.,504	3 g.,973	4 g..538	3 g.,832	4 g.,298
ACTION DE L'INVERTINE :								
Recul de la déviation	3°2'	1°56'	4°36'	4°36'	50'	44'	4°24'	2°56'
Sucre réducteur formé	1 g.,646	1 g.,474	2 g..078	2 g.,298	1 g.,829	1 g..355	2 g.,133	1 g..765
Indice	542	762	451	499	2195	1847	484	600
ACTION DE L'ÉMULSINE :								
Retour de la déviation	13°56'	9°4'	16°52'	9°54'	16°52'	8°15'	9°32'	7°10'
Sucre réducteur formé	2 g..354	1 g...44	2 g..608	1 g..486	1 g.,735	1 g .344	1 g.,489	1 g.,057
Indice	169	126	154	150	102	163	156	147

TABLEAU II. — Etude de la variation des sucres dans chaque lot chloroformé comparativement à son témoin.
(S. R. = Sucres réducteurs exprimés en glucose).

I. — Action du chloroforme pendant 1/2 heure.		
S. R. initial	Augmentation..	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,836 p. 100 par rapport au témoin : 256 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,172 p. 100 par rapport au témoin : 10,4 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,910 p. 100 par rapport au témoin : 38,6 p. 100
II. — Action du chloroforme pendant 1 heure.		
S. R. initial	Augmentation..	Absolue par rapport au témoin : 1 g.,416 p. 100 par rapport au témoin : 465 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Augmentation..	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,220 p. 100 par rapport au témoin : 10,6 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 1 g.,122 p. 100 par rapport au témoin : 43 p. 100
III. — Action du chloroforme pendant 3 heures.		
S. R. initial	Augmentation..	Absolue par rapport au témoin : 1 g.,430 p. 100 par rapport au témoin : 349 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,474 p. 100 par rapport au témoin : 25,9 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,391 p. 100 par rapport au témoin : 22,5 p. 100
IV. — Action du chloroforme pendant 6 heures.		
S. R. initial	Augmentation..	Absolue par rapport au témoin : 1 g.,266 p. 100 par rapport au témoin : 603 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,368 p. 100 par rapport au témoin : 17,2 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,432 p. 100 par rapport au témoin : 28,9 p. 100

CHAPITRE III.

Action du chloroforme en vapeur saturante.

Les expériences qui vont suivre ont eu lieu au mois de novembre. On a fait agir, le même jour, pendant des temps variables, le chloroforme en vapeur saturante sur les feuilles d'*Aucuba*. Les différents lots étant tous traités en même temps et dans les mêmes conditions, les résultats de cette série sont plus comparables entre eux que ceux de la série précédente. D'autre part, comme on opère en vapeur saturante, l'action du chloroforme sur les feuilles est plus profonde. Pour obtenir l'atmosphère de vapeur saturante, on fait le vide de l'air dans une cloche sous laquelle se trouvent des récipients ouverts, contenant du chloroforme. Il est nécessaire de faire remarquer une fois pour toutes, que le seul fait de conserver des feuilles dans le vide, ne provoque en aucune sorte la plasmolyse. Ce fait a été démontré par Maquenne et Demoussy, [52, 53], qui ont laissé pendant des temps très longs des feuilles d'*Aucuba* dans des tubes vides d'air, sans que celles-ci en souffrent.

Les lots de feuilles sont obtenus comme dans les expériences précédentes, c'est-à-dire qu'ils se correspondent deux à deux par leurs feuilles opposées. Cinq lots sont soumis aux vapeurs de chloroforme, leurs correspondants sont laissés à l'air libre. Un lot isolé est stabilisé aussitôt la cueillette pour servir de témoin initial.

Les lots destinés à être chloroformés sont mis sous cloche à vide à côté de récipients à large ouverture contenant du chloroforme. Le vide de l'air étant ensuite fait sous la cloche, les feuilles se trouvent en vapeur saturante de chloroforme.

Les feuilles traitées noircissent sous l'influence du chloroforme.

Aussitôt après la cueillette, un premier lot témoin est stabilisé.

Au bout d'une heure d'action des vapeurs de chloroforme, le premier lot chloroformé est stabilisé ainsi que son témoin.

Au bout de 2 heures d'action des vapeurs de chloroforme, le deuxième lot chloroformé est stabilisé ainsi que son témoin.

Au bout de 3 heures d'action des vapeurs de chloroforme, le troisième lot chloroformé est stabilisé ainsi que son témoin.

Au bout de 5 heures d'action des vapeurs de chloroforme, le quatrième lot chloroformé est stabilisé ainsi que son témoin.

Au bout de 8 heures d'action des vapeurs de chloroforme, le cinquième lot chloroformé est stabilisé ainsi que son témoin.

Les feuilles sont stabilisées, épuisées, comme il a été dit précédemment ; on renouvelle de même les distillations et les reprises par l'eau qui ont donné des liqueurs sur lesquelles la méthode biochimique a été pratiquée.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans les tableaux III et IV.

TABLEAU III. — Action du chloroforme en vapeur saturante sur les feuilles d'*Aucuba japonica*.

(Chiffres ramenés à 100 cm³ de liqueur représentant 100 g. de feuilles).

	Témoin initial	Témoin 1 h.	$CHCl^3$ 1 h.	Témoin 2 h.	$CHCl^3$ 2 h.	Témoin 3 h.	$CHCl^3$ 3 h.	Témoin 5 h.	$CHCl^3$ 5 h.	Témoin 8 h.	$CHCl^3$ 8 h.
DÉVIATION :											
Initiale	—19°28'	—19°44'	+1°50'	—16°48'	+2°8'	—19°44'	+2°56'	—20°16'	+4°32'	—18°24'	+4°32'
Après invertine	—20°16'	—20°16'	+32'	—18°40	+1°4'	—20°16'	+1°36'	—21°20'	+4°	—20°16'	+4°
Après émulsine	— 1°36'	— 2° 8'	+1°20'	— 2° 8'	+1°4'	— 2° 8'	+1°36'		+4°	— 2° 8'	+3°58'
SUCRES RÉDUCTEURS :											
Initiaux	0 g.,396	0 g.,376	2 g.,80	0 g.,432	3 g.,136	0 g.,492	3 g.,48	0 g.,345	3 g.,968	0 g.,328	3 g.,968
Après invertine	2 g.,04	1 g.,552	4 g.,32	1 g.,864	4 g.,488	1 g.,776	4 g.,656	1 g.,864	5 g.,392	1 g.,904	5 g.,392
Après émulsine	4 g.,576	4 g.,256	4 g.,432	4 g.,112	4 g.,660	4 g.,928	4 g.,728		5 g.,38	4 g.,576	5 g.,398
ACTION DE L'INVERTINE :											
Recul de la déviation	48'	32'	1°18'	1°52'	1°4'	32'	1°20'	1°4'	32'	1°52'	32'
Sucre réducteur formé	1 g.,644	1 g.,176	1 g.,52	1 g.,432	1 g.,352	1 g.,283	1 g.,176	1 g.,519	1 g.,424	1 g.,576	1 g.,424
Indice	2055	2205	1168	767	1267	2030	882	1424	2670	844	2670
ACTION DE L'ÉMULSINE :											
Retour de la déviation	18°40'	18°8'	48'	16°32'	0	18°8'	0		0	18°8'	0
Sucre réducteur formé	2 g.,536	2 g.,704	0 g.,112	2 g.,248	0 g.,172	3 g.,152	0 g.,072		0 g.,012	2 g.,672	0 g.,006
Indice	135	149	140	136	—	173	—		—	147	—

TABLEAU IV. — Etude de la variation des glucides, dans chaque lot chloroformé, comparativement à son témoin.

I. — Action du chloroforme pendant 1 heure.

S. R initial	Augmentation..	Absolue par rapport au témoin : 2 g.,424 p. 100 par rapport au témoin : 642 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Augmentation..	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,344 p. 100 par rapport au témoin : 29,2 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 2 g.,692 p. 100 par rapport au témoin : 99 p. 100

II. — Action du chloroforme pendant 2 heures.

S. R. initial	Augmentation..	Absolue par rapport au témoin : 2 g.,704 p. 100 par rapport au témoin : 612 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,08 p. 100 par rapport au témoin : 5,5 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 2 g.,076 p. 100 par rapport au témoin : 92,3 p. 100

TABLEAU IV (*Suite*).

III. — Action du chloroforme pendant 3 heures.

S. R. initial	Augmentation	Absolue par rapport au témoin : 2 g.,987 p 100 par rapport au témoin : 606 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,107 p. 100 par rapport au témoin : 8,3 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 3 g .08 p. 100 par rapport au témoin : 97,7 p. 100

IV. — Action du chloroforme pendant 5 heures.

S. R. initial	Augmentation	Absolue par rapport au témoin : 3 g.,623 p. 100 par rapport au témoin : 1050 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,195 p 100 par rapport au témoin : 12,8 p. 100

V. — Action du chloroforme pendant 8 heures.

S. R. initial	Augmentation	Absolue par rapport au témoin : 3 g.,640 p. 100 par rapport au témoin : 1109 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g .152 p. 100 par rapport au témoin : 9,6 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 2 g.,666 p. 100 par rapport au témoin : 99,4 p. 100

CHAPITRE IV.

Action de l'éther en vapeur saturante.

Ces expériences, qui ont eu lieu au mois d'octobre, ont été exactement conduites comme celles faites avec le chloroforme en vapeur saturante ; on a fait agir l'éther de la même façon sur les feuilles d'*Aucuba japonica*.

Quatre lots sont soumis aux vapeurs d'éther, les lots témoins sont laissés à l'air libre. Chaque lot témoin est constitué par les feuilles opposées du lot anesthésié qui lui correspond.

Les lots destinés à être soumis aux vapeurs d'éther sont mis sous la cloche à vide à côté de récipients à large ouverture contenant de l'éther. Le vide d'air étant ensuite fait sous la cloche, les feuilles se trouvent en vapeur saturante d'éther.

Les feuilles traitées noircissent sous l'influence de l'éther.

Au bout d'une heure d'action des vapeurs d'éther, le premier lot anesthésié est stabilisé, ainsi que son témoin.

Au bout de 3 heure d'action des vapeurs d'éther, le deuxième lot anesthésié est stabilisé, ainsi que son témoin.

Au bout de 6 heures d'action des vapeurs d'éther, le troisième lot anesthésié est stabilisé, ainsi que son témoin.

Au bout de 9 heures d'action des vapeurs d'éther, le quatrième lot anesthésié est stabilisé, ainsi que son témoin.

Les feuilles sont stabilisées, épuisées, comme il a été dit précédemment ; on effectue de même les distillations et les reprises par l'eau qui donnent des liqueurs sur lesquelles la méthode biochimique a été pratiquée.

Les résultats obtenus sont consignés dans les tableaux suivants :

TABLEAU V. — Action de l'éther en vapeur saturante sur les feuilles d'*Aucuba japonica*.
(Chiffres ramenés à 100 cm³ de liqueur représentant 100 g. de feuilles).

	Témoin 1 h.	Ether 1 h.	Témoin 3 h.	Ether 3 h.	Témoin 6 h.	Ether 6 h.	Témoin 9 h.	Ether 9 h.
DÉVIATION :								
Initiale	— 13°52'	— 4°	— 15°44'	+ 4°	— 16°	+ 6°56'	— 15°28'	+ 5°20'
Après invertine	— 17°20'	— 8°	— 18°24'	+ 1°52'	— 19°44'	+ 3°12'	— 17°20'	+ 3°12'
Après émulsine	+ 2° 8'	+ 2°56'	+ 2°40'	+ 2°52'	+ 2°24'	+ 3°16'	+ 2°40'	+ 3°12'
SUCRES RÉDUCTEURS ;								
Initiaux	0 g.,330	1 g.,428	0 g.,191	3 g. 04	0 g.,180	3 g.,39	0 g ,17	3 g.,27
Après invertine	1 g ,974	3 g.,086	1 g.,730	4 g.,488	1 g.,73	4 g.,78	1 g.,73	4 g.,56
Après émulsine	4 g.,26	4 g.,216	4 g.,26	4 g..611	4 g.,43	4 g.,85	4 g.,26	4 g.,60
ACTION DE L'INVERTINE :								
Recul de la déviation	3°28'	4°	2°40'	2°8'	3°44'	3°44'	1°52'	2°8'
Sucre réducteur formé	1 g.,644	1 g.,658	1 g.,539	1 g..44	1 g. 55	1 g.,39	1 g ,56	1 g.,29
Indice	474	414	577	675	415	372	835	604
ACTION DE L'ÉMULSINE :								
Retour de la déviation	19°28'	10°56'	21°4'	1°	22°8'	4'	20°	0
Sucre réducteur formé	2 g ,29	1 g..13	2 g ,53	0 g.,123	2 g.,70	0 g.,07	2 g..53	0 g.,04
Indice	117	103	120	123	121	—	126	—

TABLEAU VI. — Etude de la variation des glucides, dans chaque lot anesthésié, comparativement à son témoin.

I. — Action de l'éther pendant 1 heure.		
S. R. initial	Augmentation	Absolue par rapport au témoin : 1 g.,098 p. 100 par rapport au témoin : 332,7 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,014 p. 100 par rapport au témoin : 0,8 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 1 g.,16 p. 100 par rapport au témoin : 52 p. 100
II. — Action de l'éther pendant 3 heures.		
S. R. initial	Augmentation	Absolue par rapport au témoin : 2 g.,849 p. 100 par rapport au témoin : 1244 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,099 p. 100 par rapport au témoin : 6,4 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 2 g.,407 p. 100 par rapport au témoin : 95 p. 100
III. — Action de l'éther pendant 6 heures.		
S. R. ininitial	Augmentation	Absolue par rapport au témoin : 3 g.,21 p. 100 par rapport au témoin : 1783 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,16 p. 100 par rapport au témoin : 10,3 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 2 g.,63 p. 100 par rapport au témoin : 97,4 p. 100
IV. — Action de l'éther pendant 9 heures.		
S. R. initial	Augmentation	Absolue par rapport au témoin : 3 g.,10 p. 100 par rapport au témoin : 1823 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,27 p. 100 par rapport au témoin : 17,3 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 2 g.,53 p. 100 par rapport au témoin : 100 p. 100

CHAPITRE V.

Action du benzène en vapeur saturante.

Cette série d'expériences a été conduite comme les précédentes, faites en vapeur saturante. Les lots de feuilles d'*Aucuba* ont été constitués comme précédemment.

Trois lots sont soumis aux vapeurs de benzène; les témoins correspondants sont laissés à l'air libre.

Les lots destinés à être soumis aux vapeurs de benzène sont mis sous la cloche à vide à côté de récipients à large ouverture contenant du benzène. Le vide d'air étant ensuite fait sous la cloche, les feuilles se trouvent en vapeur saturante de benzène.

Au bout de 3 heures d'action des vapeurs de benzène, le premier lot traité est stabilisé, ainsi que son témoin.

Au bout de 6 heures d'action des vapeurs de benzène, le deuxième lot traité est stabilisé, ainsi que son témoin.

Au bout de 12 heures d'action des vapeurs de benzène, le troisième lot traité est stabilisé, ainsi que son témoin.

Les feuilles traitées noircissent sous l'influence du benzène.

Les feuilles sont stabilisées, épuisées, comme il a été dit précédemment ; on effectue de même les distillations et les reprises par l'eau qui donnent des liqueurs sur lesquelles on étudie les variations des glucides sous l'influence de l'invertine et de l'émulsine.

Les résultats obtenus sont consignés dans les tableaux suivants :

TABLEAU VII. — Action du benzène en vapeur saturante sur les feuilles d'*Aucuba japonica*.
(Chiffres ramenés à 100 cm³ de liqueur représentant 100 g. de feuilles).

	Témoin 3 h.	Benzène 3 h.	Témoin 6 h.	Benzène 6 h.	Témoin 12 h.	Benzène 12 h.
DÉVIATION :						
Initiale	— 15°12'	— 7°12'	— 13°36'	+ 32'	— 15°28'	+ 3°44'
Après invertine	— 16°	— 8°	— 14°24'	— 32'	— 16°32'	+ 2°56'
Après émulsine	+ 1°52'	+ 2° 8'	+ 1°36'	+ 2°40'	+ 1°20'	+ 5°56'
SUCRES RÉDUCTEURS :						
Initiaux	0 g.,216	1 g.,340	0 g.,191	2 g.,534	0 g.,259	3 g.,292
Après invertine	1 g.,904	2 g.,786	1 g.,886	3 g.,976	1 g.,796	4 g.,56
Après émulsine	4 g.,536	4 g.,536	4 g.,248	4 g.,514	4 g.,752	4 g.,706
ACTION DE L'INVERTINE :						
Recul de la déviation	48'	48'	48'	1°4'	1°4'	48'
Sucre réducteur formé	1 g.,688	1 g.,446	1 g.,695	1 g.,442	1 g.,537	1 g.,268
Indice	2110	1807	2119	1351	1440	1585
ACTION DE L'ÉMULSINE :						
Retour de la déviation	17°52'	10°8'	16°	3°12'	17°52'	1°
Sucre réducteur formé	2 g.,632	1 g.,750	2 g.,362	0 g.,538	2 g.,956	0 g.,146
Indice	147	172	147	168	165	146

TABLEAU VIII. — Etude de la variation des glucides dans chaque lot traité comparativement à son témoin.

I. — Action du benzène pendant 3 heures.		
S. R. initial	Augmentation	Absolue par rapport au témoin : 1 g.,124 p. 100 par rapport au témoin : 520 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g ,242 p. 100 par rapport au témoin : 14,3 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,882 p. 100 par rapport au témoin : 33,5 p. 100
II. — Action du benzène pendant 6 heures.		
S. R. initial	Augmentation	Absolue par rapport au témoin : 2 g..343 p. 100 par rapport au témoin : 1226 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,253 p. 100 par rapport au témoin : 14,9 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 1 g..824 p. 100 par rapport au témoin : 77,2 p. 100
III. — Action du benzène pendant 12 heures.		
S. R. initial	Augmentation	Absolue par rapport au témoin : 3 g..033 p. 100 par rapport au témoin : 1171 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 0 g.,269 p. 100 par rapport au témoin : 17,5 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution	Absolue par rapport au témoin : 2 g ,810 p. 100 par rapport au témoin : 95 p. 100

CHAPITRE VI.

Dosages pondéraux d'aucuboside.

Dans ce chapitre, que l'on range à la fin des travaux sur l'*Aucuba*, nous allons relater des expériences dans lesquelles on a voulu observer, par une autre méthode que la méthode biochimique, le dédoublement de l'aucuboside sous l'influence du chloroforme à la pression ordinaire. Ces expériences ont pu être faites grâce à des dosages pondéraux d'aucuboside, effectués sur des feuilles d'*Aucuba* par la méthode donnée par Lebas [47].

Principe de la méthode

Nous avons vu que l'aucuboside, glucoside de l'*Aucuba*, se dédouble sous l'influence des acides en donnant du glucose et un composé qui n'a pas été encore isolé, mais dont l'existence est cependant certaine, l'aucubigénol. Cet aucubigénol, dès sa formation, est altéré par l'acide en solution et se résout en un précipité noir qui serait un produit de polymérisation (oxydation). Ce précipité noir se forme lentement à froid, mais si l'on chauffe la solution, tout l'aucubigénol est rapidement, totalement polymérisé. Le précipité noir ainsi obtenu correspond à une certaine quantité d'aucuboside. Lebas, en opérant sur des poids connus d'aucuboside, a établi une relation constante entre le poids de précipité obtenu et le poids d'aucuboside mis en œuvre, ce qui a permis de faire des dosages pondéraux de glucoside.

Mode opératoire.

Lebas opère de la façon suivante : 30 grammes d'organes frais sont stabilisés dans l'alcool à 95° bouillant additionné de carbonate de chaux. Après une heure d'ébullition, on décante le liquide, on le filtre, et on divise finement le tissu végétal. Le marc obtenu est de nouveau épuisé deux fois de suite avec de l'alcool à 90° à l'ébullition. On filtre, on réunit les liqueurs alcooliques et on les distille dans le vide partiel en présence d'un peu de carbonate de chaux. L'extrait restant après distillation est repris par une quantité d'eau distillée inférieure à 100 cm³, employée en plusieurs reprises, et les liqueurs aqueuses résultant de ces divers traitements sont filtrées au fur et à mesure de leur obtention dans un ballon jaugé de 100 cm³ ; après refroidissement complet, on lave le filtre avec de l'eau distillée de façon à compléter le volume à 100 cm³. Avec cette liqueur extractive, on fait le mélange suivant :

Liqueur extractive.....	20 cm³
Acide sulfurique.....	0 g.,20
Eau distillée.....	Q.S. 100 cm³

Ce mélange est placé dans un vase conique, fermé par un bouchon de caoutchouc traversé par un tube ouvert et effilé à sa partie supérieure. On immerge le vase dans un bain-marie que l'on fait bouillir pendant 1 heure. Dans ces conditions, sous l'action de l'acide sulfurique et de la chaleur, l'aucuboside ne tarde pas à s'hydrolyser. La solution, d'abord incolore, devient bleu verdâtre, puis jaune, puis brune et donne enfin naissance à un précipité brun noir d'aucubigénol polymérisé.

Le ballon est ensuite mis à refroidir et abandonné au repos 24 heures. Le précipité se rassemble mieux ainsi. On filtre, en s'aidant du vide, sur un creuset de Gooch préalablement séché à l'étuve à 100° et taré. Le précipité

est lavé 5 ou 6 fois avec 25 cm^3 d'eau distillée chaque fois, et l'on s'assure que les dernières portions ne réduisent pas la liqueur de FEHLING. Le creuset est alors porté à l'étuve à 100° et on l'y laisse séjourner jusqu'à poids constant.

L'augmentation de poids du creuset représente le poids du précipité fourni par la quantité d'aucuboside mise en expérience. Ce poids multiplié par $\frac{100}{36}$ donne le poids d'aucuboside correspondant.

Application.

Ce procédé a été appliqué aux expériences qui vont suivre, avec quelques modifications sans importance dans les détails.

Il a été fait 6 lots de feuilles d'*Aucuba* pesant 25 grammes chacun. Ces lots forment 3 groupes ; chaque groupe comprend 2 lots identiques obtenus en détachant en même temps les deux feuilles opposées sur un rameau et en les mettant chacune dans un lot.

3 lots pris chacun dans un groupe sont soumis aux vapeurs de chloroforme, les 3 autres servent de témoins et restent à l'air libre.

Les lots destinés à être chloroformés sont placés sur des tamis au-dessus de cristallisoirs contenant du chloroforme, dans une enceinte fermée.

Les feuilles noircissent sous l'influence du chloroforme.

Au bout d'une heure, le premier lot chloroformé est stabilisé, en même temps que son témoin.

Au bout de 3 heures, le deuxième lot chloroformé est stabilisé, en même temps que son témoin.

Au bout de 6 heures, le troisième lot chloroformé est stabilisé, en même temps que son témoin.

Les feuilles sont stabilisées, épuisées comme il a été

dit ; on effectue de même les distillations et les reprises par l'eau.

On obtient donc 6 solutions aqueuses complétées à 100 cm³ sur lesquelles on pratique le dosage de l'aucuboside tel que l'a indiqué LEBAS.

Du poids de précipité obtenu on déduit la quantité d'aucuboside mise en œuvre et on rapporte à 100 grammes de feuilles.

Les résultats sont consignés dans les tableaux IX et X.

TABLEAU IX. — Action du chloroforme à la pression ordinaire sur les feuilles d'*Aucuba*, d'après des dosages pondéraux d'aucuboside.

(Quantités d'aucuboside exprimées pour 100 g. de feuilles).

	1 heure	3 heures	6 heures
Feuilles témoins.....	6 g.,44	5 g.,60	5 g ,80
Feuilles chloroformées	5 g.,04	4 g.,32	3 g ,76

TABLEAU X. — Etude du dédoublement de l'aucuboside dans chaque lot chloroformé par rapport à son témoin.

I. — ACTION DU CHLOROFORME PENDANT 1 HEURE.		
Diminution de l'aucuboside..	Absolue par rapport au témoin :	1 g ,40
	p. 100 par rapport au témoin :	21,7 p. 100
II. — ACTION DU CHLOROFORME PENDANT 3 HEURES.		
Diminution de l'aucuboside..	Absolue par rapport au témoin :	1 g.,28
	p. 100 par rapport au témoin :	22,8 p 100
III. — ACTION DU CHLOROFORME PENDANT 6 HEURES.		
Diminution de l'aucuboside..	Absolue par rapport au témoin :	2 g ,04
	p. 100 par rapport au témoin :	35,2 p. 100

CONCLUSIONS.

1° Dans toutes les expériences, on constate, sous l'influence de la narcose, une augmentation des sucres réducteurs initiaux.

2° Dans tous les cas, on constate que la proportion des osides dédoublables par l'invertine a diminué. Les variations des indices biochimiques calculés incitent à se demander si les osides dédoublables par l'invertine sont constitués uniquement par le saccharose. Ces indices varient en effet de 414 à 2670, le chiffre théorique étant 604.

Un certain nombre de chiffres aberrants s'expliquent très facilement par les conditions d'expérience. Nous avons vu que les lectures polarimétriques devaient être faites sur des liqueurs très diluées et que, pour rapporter la déviation à la liqueur initiale, il fallait multiplier par 8 le chiffre de la déviation lue directement. Une erreur de lecture de 2' se traduit alors par une erreur de 16' pour la liqueur initiale. Cela suffit pour modifier sensiblement l'indice biochimique et pour expliquer la plupart des chiffres compris entre 450 et 900. Cela ne peut expliquer les chiffres très éloignés du chiffre théorique (au-dessus de 900).

Les chiffres sensiblement inférieurs au chiffre théorique et qui ne peuvent s'expliquer que par une erreur de lecture supérieure à 4' au total, sont rares : Trois seulement sont dans ce cas. Il n'en est pas de même pour les chiffres très supérieurs au chiffre théorique ; nous en trouvons 16 (sur 33) qui sont très supérieurs à l'indice théorique (de 1168 à 2670). Il est donc permis de penser qu'il existe, dans la feuille d'*Aucuba*, d'autres principes dédoublables par l'invertine que le saccharose. Ces holosides ne se trouveraient pas toujours dans les mêmes proportions dans la feuille. Les expériences que

nous avons faites à diverses époques de l'année ne nous donnent pas d'indications absolues à ce sujet. Cependant, il est bon de remarquer que tous les indices obtenus au cours de l'expérience du tableau V (expérience faite au mois de décembre), sont assez peu éloignés de l'indice théorique et peu élevés, tandis que ces indices sont tous très élevés dans l'expérience du tableau VII (faite au mois de novembre). De même l'expérience III du tableau I, faite au début du mois d'octobre, donne des indices très élevés alors que ces indices sont plus proches de l'indice théorique dans les expériences I, II, IV du même tableau, faites au mois de décembre et de janvier. Enfin, les expériences du tableau III, faites en octobre, donnent des indices assez variables, mais en général élevés.

Nous pouvons conclure que, très vraisemblablement il existe dans les feuilles d'*Aucuba* d'autres osides dédoublables par l'invertine que le saccharose, et que leur proportion varie avec l'époque de la végétation. Cette question a déjà été soulevée par J. Rabaté à propos du sucre réducteur libéré par l'invertine dans les rameaux frais d'*Amelanchier vulgaris* Moench. [65]. Cet auteur trouve des indices très élevés pendant les mois de juin et juillet, alors qu'aux autres époques les chiffres se rapprochent de l'indice théorique.

La proportion d'holosides dédoublés sous l'influence de la narcose est faible, très éloignée de la proportion d'hétéroside dédoublé dans le même temps. Cette proportion varie, suivant les cas, de 12 à 26 p. 100. Dans deux expériences, on a constaté, au contraire, sous l'influence des agents chimiques, une augmentation du contingent glucidique hydrolysable par l'invertine : après une heure d'exposition à l'air saturé de chloroforme où la proportion d'osides dédoublable par l'invertine a augmenté de 10 p. 100 environ, et dans l'expérience après une heure d'exposition au chloroforme en vapeur saturante où l'augmentation est de 29 p. 100. Ces faits ne sont pas

suffisants pour conclure à une condensation d'oses, ils sont cependant à signaler.

3° Le noircissement rapide des feuilles d'*Aucuba* sous l'influence des anesthésiques, accuse le dédoublement de l'aucuboside. Ici, les indices calculés sont satisfaisants : ils varient de 103 à 172, l'indice théorique étant 144 ; l'indice moyen de nos expériences est 141.

Chez les feuilles simplement exposées en hotte fermée aux vapeurs de chloroforme, la proportion d'hétéroside dédoublé a varié de 22 à 43 p. 100 ; nous avons vu que les expériences n'étaient pas entièrement comparables entre elles, ayant été faites à des moments différents de l'année ; ainsi, s'explique l'absence de parallélisme entre la durée de la narcose et la proportion d'aucuboside dédoublé. Chez les feuilles soumises à la vapeur saturante de chloroforme, la totalité de l'hétéroside est dédoublée après une heure. L'éther agit moins énergiquement ; en vapeur saturante, après une heure, la proportion d'aucuboside dédoublé s'élève seulement à 52 p. 100 ; après 3 heures le dédoublement est complet. L'action du benzène est moins intense que celle de l'éther. Après 3 heures la proportion d'hétéroside dédoublé est de : 33 p. 100, après 6 heures elle est de 77 p. 100 et après 12 heures de 95 p. 100.

Des dosages d'aucuboside ont été effectués par la méthode pondérale de Lebas sur des feuilles d'*Aucuba* ayant subi l'action du chloroforme à la pression ordinaire. Les résultats obtenus ont confirmé ceux donnés par la méthode biochimique.

4° Il était intéressant de s'assurer si, après action des agents chimiques sur les feuilles d'*Aucuba*, l'excès des sucres réducteurs initiaux correspondait à la somme des sucres réducteurs libérés par l'action des diastases sur le saccharose et l'aucuboside. L'excès des sucres réducteurs initiaux est quelquefois inférieur, le plus souvent supérieur à la somme des sucres réducteurs ainsi libérés.

Lorsque l'excès des sucres réducteurs initiaux est inférieur à la somme des sucres libérés par l'hydrolyse du saccharose et de l'aucuboside, on peut supposer qu'il y a eu consommation de sucres par respiration de la feuille ; c'est en effet dans les expériences de courte durée que l'on constate cette déficience. Dans le cas contraire, cela laisse supposer que d'autres substances que le saccharose et l'aucuboside ont été hydrolysées ; il est probable qu'il y a eu hydrolyse partielle de l'amidon dans ce cas.

DEUXIÈME PARTIE.

Expériences sur le Troène.

CHAPITRE PREMIER.

Composition du Troène et détails sur la marche des expériences.

Les feuilles du Troène commun (*Ligustrum vulgare* L.) et d'une espèce voisine (*Ligustrum japonicum* Hort.) ont été l'objet d'expériences que nous allons relater dans ce chapitre.

Nous avons essayé, dans cette série de travaux, d'étudier les variations des glucides contenus dans les feuilles de Troène sous l'influence des vapeurs de chloroforme dans des conditions variables et pendant des temps variables. De même que dans les expériences sur les feuilles d'*Aucuba japonica* relatées précédemment, nous avons fait une série d'expériences en faisant agir le chloroforme à la pression ordinaire, et une autre série en faisant agir le chloroforme en vapeur saturante.

Avant d'aborder les travaux proprement dits, nous allons donner brièvement quelques précisions sur la composition des feuilles de Troène.

Composition des feuilles de Troène.

La composition du Troène a été étudiée particulièrement par J. Vintilesco [71]. Le Troène contient un glucoside : le syringoside (syringine ou ligustrine), qui se retrouve également dans d'autres Oléacées : le Lilas et le Jasmin.

Les feuilles de Troène renferment en outre du saccharose et une certaine quantité de sucre réducteur.

Le syringoside est un glucoside lévogyre, cristallisant avec 4,61 p. 100 d'eau. Sa formule brute est $C^{17}H^{24}O^{9} + H^{2}O$. C'est de l'oxyméthylconiférine. Son point de fusion est de 191°-192°.

Le syringoside est dédoublable par les acides en syringénol et en glucose. Le syringoside est également dédoublé par l'émulsine en glucose et syringénol. Le dédoublement total du glucoside fournit 46,15 p. 100 de glucose.

Le pouvoir rotatoire du syringoside est : $[\alpha]_{D} = -17°$ (anhydre), son indice de réduction enzymolytique est de 570.

Réactions colorées. — Les solutions alcooliques ou aqueuses de syringoside donnent avec l'acide sulfurique concentré une coloration bleu azur, qui devient violette avec une quantité plus grande d'acide. Le mélange des liquides étant dilué avec de l'eau, il se sépare des flocons bleu foncé, solubles dans l'alcool et l'ammoniaque avec une coloration rouge cerise.

L'acide azotique concentré dissout le syringoside en donnant une coloration rouge sang.

Le syringénol, corps amorphe à coloration rose,insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, donne les mêmes réactions colorées que le syringoside avec les acides.

Principe des dosages.

Ainsi qu'il a été déjà fait pour les expériences sur l'*Aucuba japonica,* c'est la méthode biochimique de

Bourquelot qui a été employée, pour suivre dans les feuilles de Troène les variations des glucides sous l'influence du chloroforme.

Nous allons décrire comme pour l'*Aucuba* une expérience en détail. On verra que, dans ces expériences, il n'a pas été nécessaire de diluer autant les liqueurs que pour l'*Aucuba*, aussi nos indices sont-ils plus exacts.

Détail d'une expérience.

On a toujours opéré sur des lots identiques afin d'avoir des lots chloroformés et des lots témoins comparables entre eux.

A cette fin, les feuilles, de même grandeur autant que possible, sont détachées des rameaux et mises en tas. Ce tas est ensuite brassé longuement afin de l'homogénéiser. On prélève sur ce tas les lots de feuilles destinés aux expériences, qui sont ainsi aussi comparables que possible entre eux. Un lot étant soumis au chloroforme pendant un temps déterminé, un lot témoin est abandonné le même temps à l'air libre et les deux lots sont stabilisés en même temps.

Chaque lot est de 100 grammes de feuilles. Ces feuilles sont coupées en morceaux au moment de la stabilisation et jetées dans un litre d'alcool à 95° bouillant additionné d'une pincée de carbonate de chaux pour neutraliser les acides organiques éventuels, sans interrompre l'ébullition. Après une heure d'épuisement la liqueur bouillante est jetée sur filtre et les feuilles sont placées dans une capsule pour être mises à l'étuve à 40°. Après dessiccation, les feuilles sont broyées au hachoir universel ; on les remet ensuite dans le ballon à épuisement avec 500 cm³ d'alcool à 80° et on épuise à nouveau à l'ébullition pendant une heure. Ce deuxième épuisement est répété à nouveau. Les liqueurs alcooliques réunies sont ensuite distillées dans le vide partiel

jusqu'à consistance sirupeuse ; le résidu est repris au bain-marie par l'eau toluénée. La liqueur aqueuse est complétée, après filtration et refroidissement, à 200 cm^3.

Examen direct. — La liqueur est déféquée de la façon suivante :

25 cm^3 de cette liqueur sont mesurés exactement dans un ballon jaugé de 50 cm^3, et additionnés de 5 cm^3 de sous-acétate de plomb, puis on complète à 50 cm^3 avec de l'eau distillée. On obtient un précipité jaune serin abondant, dû certainement à des composés flavoniques On filtre ; sur le filtrat on pratique l'examen polarimétrique :

$$\rho = - 18'$$

ce qui fait pour la liqueur non déféquée :

$$\rho = - 36'$$

Le chiffre de la déviation doit être ramené maintenant à une liqueur dont 100 cm^3 correspondent à 100 g. de feuilles. Comme ici 200 cm^3 correspondent à 100 g. de feuilles, il faut multiplier par 2 la valeur de la déviation de la liqueur non déféquée, d'où :

$$\rho = - 1°12'$$

La quantité de sucre réducteur exprimée en glucose et dosé par la méthode de G. Bertrand sur 10 cm^3 de liqueur est de : 2 mg.,8.

Pour 200 cm^3 de liqueur non déféquée, la quantité de glucose est de :

$$2{,}8 \times 2 \times 20 = 112 \text{ mg.}$$

ce qui correspond à 100 grammes des feuilles.

Examen après invertine. — La liqueur primitive est additionnée d'invertine et mise à l'étuve à 30°, jusqu'à ce que la déviation polarimétrique ne varie plus.

25 cm^3 de cette liqueur sont additionnés comme précédemment de sous-acétate de plomb, puis complétés à

50 cm³. Après filtration on pratique l'examen polarimétrique :

$$\rho = - 28'$$

ce qui fait pour la liqueur non déféquée :

$$\rho = - 56'$$

et, pour une liqueur dont 100 cm³ correspondent à 100 grammes de feuilles :

$$\rho = - 1°52'$$

La quantité de sucre réducteur exprimée en glucose, dosé sur 10 cm³ de liqueur est de : 14 mg.,26.
ce qui fait pour 200 cm³ de liqueur non déféquée :

$$14{,}26 \times 2 \times 20 = 570 \text{ mg.,4.}$$

ce qui correspond à 100 grammes de feuilles.

Recul de la déviation après invertine : 40'

Sucre réducteur formé sous l'action de l'invertine : 0 g.,458.

$$\textit{Indice} : \frac{458 \times 60}{40} = 687$$

Examen après émulsine : La liqueur primitive, après action de l'invertine, est portée au bain-marie bouillant pour détruire l'invertine. Après refroidissement, on ajoute de l'émulsine et on laisse à l'étuve à 30° jusqu'à ce que la déviation polarimétrique reste constante.

Sur la liqueur déféquée dans les mêmes conditions que précédemment on pratique l'examen polarimétrique :

$$\rho = - 2'$$

ce qui fait pour la liqueur non déféquée :

$$\rho = - 4'$$

et pour une liqueur dont 100 cm³ correspondent à 100 grammes de feuilles :

$$\rho = - 8'$$

La quantité de sucre réducteur, exprimée en glucose, dosé sur 10 cm³ de liqueur est de : 40 mg.,50.

Pour 200 cm³ de liqueur non déféquée la quantité de glucose est :

1620 mg.

ce qui correspond à 100 grammes de feuilles.

Retour de la déviation : 1°44'

Sucre réducteur formé sous l'action de l'émulsine : 1 g.,05.

$$\textit{Indice} : \frac{1050 \times 60}{104} = 605.$$

CHAPITRE II.

Action du chloroforme à la pression ordinaire.

Ces expériences ont été faites avec les feuilles de *Ligustrum japonicum* Hort., espèce à feuilles longues et pointues ; elles ont eu lieu le même jour et, par conséquent, sont toutes comparables entre elles.

On opère de la façon suivante : les feuilles sont détachées des branches, mises en tas et brassées longuement afin d'homogénéiser la masse. Dans cette masse, on prélève 6 lots de 100 grammes chacun. Ces lots sont ainsi très comparables.

Trois lots sont laissés à l'air libre pour servir de témoins. Les trois autres sont placés dans une enceinte fermée, sur des tamis, au-dessus de récipients renfermant du chloroforme.

Les feuilles chloroformées prennent une coloration jaune.

Au bout d'une heure, un des lots soumis à l'action du chloroforme est retiré et stabilisé en même temps qu'un lot resté à l'air libre.

Au bout de 3 heures, on stabilise un lot ayant subi l'action du chloroforme, en même temps qu'un lot laissé à l'air libre.

Au bout de 6 heures, on stabilise le dernier lot laissé aux vapeurs de chloroforme et celui restant à l'air libre.

Les feuilles sont épuisées comme il a été dit précédemment. On effectue de même les distillations et les reprises par l'eau, qui donnent des liqueurs sur lesquelles les variations des holosides et des hétérosides sont suivies à l'aide de l'invertine et de l'émulsine.

Les résultats de cette expérience sont réunis dans les tableaux X et XI :

TABLEAU X.— Action du chloroforme à la pression ordinaire sur les feuilles de *Ligustrum japonicum* Hort.

(Résultats exprimés pour 100 cm³ de liqueur représentant 100 g. de feuilles.)

	Témoin 1 h.	$CHCl^3$ 1 h.	Témoin 3 h.	$CHCl^3$ 3 h.	Temoin 6 h.	$CHCl^3$ 6 h.
Déviation :						
Initiale	— 1°20'	+ 48'	— 1°12'	+ 1°20'	— 1°2'	+ 1°44'
Après invertine	— 2°	+ 8'	— 1°52'	+ 48'	— 1°44'	+ 28'
Après emulsine	— 30'	+ 1°12'	— 8'	+ 1°40'	— 32'	+ 28'
Sucres réducteurs :						
Initiaux	0 g.,205	0 g.,911	0 g.,112	1 g.,054	0 g.,124	1 g.,392
Après invertine	0 g.,630	1 g.,332	0 g.,570	1 g.,422	0 g.,581	1 g.,522
Après émulsine	1 g.,405	2 g.,060	1 g.,62	1 g.,973	1 g.,193	1 g.,600
Action de l'invertine :						
Recul de la déviation	40'	40'	40'	32'	42'	16'
Sucre réducteur formé	0 g.,425	0 g.,421	0 g.,458	0 g.,368	0 g.,457	0 g.,130
Indice	637	631	687	690	652	487
Action de l'émulsine :						
Retour de la déviation	1°30'	1°4'	1°44'	52'	72'	0
Sucre réducteur formé	0 g.,775	0 g.,728	1 g.,050	0 g.,551	0 g.,612	0 g.,078
Indice	516	682	605	635	510	—

TABLEAU XI. — Etude de la variation des glucides dans chaque lot chloroformé comparativement à son témoin.

I. — Action du chloroforme pendant 1 heure.			
S. R. initial	Augmentation.	Absolue par rapport au témoin :	0 g ,656
		p. 100 par rapport au témoin :	38,8 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution...	Absolue par rapport au témoin :	0 g.,004
		p. 100 par rapport au témoin :	négligeable
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution...	Absolue par rapport au témoin :	0 g.,047
		p. 100 par rapport au témoin :	6 p. 100
II. — Action du chloroforme pendant 3 heures.			
S. R. initial	Augmentation.	Absolue par rapport au témoin :	0 g.,942
		p. 100 par rapport au témoin :	832 p 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution...	Absolue par rapport au témoin :	0 g.,09
		p. 100 par rapport au témoin :	19,6 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution...	Absolue par rapport au témoin :	0 g.,499
		p. 100 par rapport au témoin :	47.5 p. 100
III. — Action du chloroforme pendant 6 heures.			
S. R. initial	Augmentation.	Absolue par rapport au témoin :	1 g..268
		p. 100 par rapport au témoin :	1022 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution...	Absolue par rapport au témoin :	0 g.,327
		p. 100 par rapport au témoin :	71 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution...	Absolue par rapport au témoin :	0 g..534
		p. 100 par rapport au témoin :	87,2 p. 100

CHAPITRE III.

Action du chloroforme en vapeur saturante.

Ces expériences ont porté sur une espèce de Troène différente de celle de l'expérience précédente, à savoir sur le *Ligustrum vulgare* L., espèce à petites feuilles.

On a préparé, comme dans les autres expériences, des lots homogènes.

Les lots devant être chloroformés sont placés sous une cloche à vide à côté de récipients à large ouverture renfermant du chloroforme. Le vide d'air est ensuite fait sous la cloche. De cette façon, les feuilles se trouvent être en vapeur saturante de chloroforme. Les feuilles soumises au chloroforme prennent une coloration jaune.

Au bout de 3 heures d'exposition aux vapeurs, un lot chloroformé est stabilisé dans l'alcool bouillant, en même temps qu'un lot témoin laissé à l'air libre.

Au bout de 6 heures d'exposition aux vapeurs, le deuxième lot chloroformé est stabilisé également, en même temps que le deuxième lot témoin laissé à l'air libre.

Les stabilisations et les épuisements, ainsi que les distillations et les reprises par l'eau, sont effectués comme il a été dit précédemment. Dans les solutions aqueuses obtenues, les variations des glucides sont suivies à l'aide de la méthode biochimique de Bourquelot.

Les résultats de cette expérience sont réunis dans les tableaux suivants ;

TABLEAU XII. — Action du chloroforme en vapeur saturante sur les feuilles de *Ligustrum vulgare* L.
(Résultats exprimés pour 100 cm³ de liqueur représentant 100 g. de feuilles).

	Témoin 3 h.	$CHCl^3$ 3 h.	Témoin 6 h.	$CHCl^3$ 6 h.
Déviation :				
Initiale	— 2°28'	+ 58'	— 2°18'	+ 1°30'
Après invertine	— 3° 4'	+ 32'	— 2°56'	+ 1° 4'
Après émulsine	— 1°52'	+ 42'	— 1°36'	+ 1°12'
Sucres réducteurs :				
Initiale	0 g.,113	1 g.,044	0 g.,109	1 g.,044
Après invertine	0 g.,477	1 g.,313	0 g.,477	1 g.,313
Après émulsine	1 g.,074	1 g.,357	1 g.,246	1 g.,357
Action de l'invertine :				
Recul de la déviation	36'	26'	38'	26'
Sucre réducteur formé	0 g.,364	0 g.,269	0 g.,368	0 g.,269
Indice	606	620	582	620
Action de l'émulsine :				
Retour de la déviation	1°12'	10'	1°20'	8'
Sucre réducteur formé	0 g.,597	0 g.,04	0 g.,769	0 g.,04
Indice	497	—	576	—

TABLEAU XIII. — Etude de la variation des glucides dans chaque lot chloroformé comparativement à son témoin.

I. — Action du chloroforme pendant 3 heures.

S. R. initial.....	Augmentation.	Absolue par rapport au témoin :	0 g.,931
		p. 100 par rapport au témoin :	824 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution...	Absolue par rapport au témoin :	0 g.,095
		p. 100 par rapport au témoin :	26 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution...	Absolue par rapport au témoin :	0 g.,557
		p. 100 par rapport au témoin :	93,4 p. 100

II. — Action du chloroforme pendant 6 heures.

S. R. initial.....	Augmentation.	Absolue par rapport au témoin :	0 g. 935
		p. 100 par rapport au témoin :	857 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution...	Absolue par rapport au témoin :	0 g.,099
		p. 100 par rapport au témoin :	26,9 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution...	Absolue par rapport au témoin :	0 g.,729
		p. 100 par rapport au témoin :	94,7 p. 100

CONCLUSIONS.

1° Dans les deux séries d'expériences qui précèdent, on constate, sous l'influence du chloroforme, l'augmentation des sucres réducteurs initiaux.

2° Dans tous les cas, on constate que la proportion des osides dédoublables par l'invertine a diminué.

Contrairement à ce qui a lieu pour l'*Aucuba*, on constate que les indices des osides dédoublés ne s'éloignent pas de celui du saccharose.

La proportion de l'oside dédoublé (exprimé en saccharose) est moins forte que la proportion d'hétéroside dédoublé dans le même temps. L'action du chloroforme est plus accentuée sur les holosides, à la pression ordinaire, qu'en vapeur saturante. En effet, dans l'expérience faite avec le chloroforme à la pression ordinaire, la proportion de l'oside dédoublé atteint 71 p. 100 au bout de 6 heures, dans l'expérience faite en vapeur saturante la proportion d'holoside dédoublé au bout du même temps est seulement de 26,9 p. 100.

3° Le syringoside subit un dédoublement sous l'influence du chloroforme. Chez les feuilles exposées au chloroforme à la pression ordinaire, la proportion de syringoside dédoublé atteint 6 p. 100 au bout d'une heure d'exposition, et au bout de 6 heures, 87,2 p. 100. Sous l'influence du chloroforme en vapeur saturante, le syringoside est dédoublé beaucoup plus rapidement. Déjà au bout de 3 heures, l'hydrolyse est quasi totale (93,4 p. 100), et au bout de 6 heures, la proportion de glucoside dédoublé atteint 94,7 p. 100.

4° Dans toutes les expériences, l'excès des sucres réducteurs initiaux est toujours supérieur à la somme des

sucres réducteurs libérés par l'hydrolyse du saccharose et du syringoside. Il faut donc admettre que des composés autres que le saccharose et le syringoside ont été dédoublés ; tout porte à croire que c'est l'amidon qui est hydrolysé dans ce cas.

TROISIÈME PARTIE.

Expériences sur l'écorce de Marronnier *Aesculus Hippocastanum* L. (Sapindacées).

CHAPITRE PREMIER.

Composition de l'écorce de Marronnier et détails sur la marche des expériences.

Les expériences qui vont suivre ont été faites sur l'écorce de Marronnier, avec le chloroforme agissant uniquement en vapeur saturante.

Il était intéressant, après avoir constaté une action intense des vapeurs de chloroforme sur les feuilles, de voir dans quelle mesure cette action pouvait se retrouver sur les écorces qui sont constituées par des tissus plus compacts. Nous avons donc cherché au cours de ces travaux à étudier l'action des vapeurs de chloroforme sous leur forme la plus active, c'est-à-dire en vapeur saturante, sur les glucides d'une écorce type qui a été dans la circonstance l'écorce de Marronnier d'Inde.

Ces expériences ont été faites à l'automne et sur des écorces provenant de rameaux n'ayant pas plus de 2 à 3 centimètres de diamètre. Avant d'aborder la partie ex-

périmentale proprement dite, on a cru bon de rassembler brièvement quelques éléments sur la composition de l'écorce de Marronnier.

Composition.

Le principal constituant spécifique de l'écorce de Marnier est l'esculoside (esculine), glucoside non azoté dont la composition a été donnée par C. Zwenger [75].

C'est un corps blanc, cristallisé en aiguilles prismatiques, soluble dans l'eau froide en donnant une belle fluorescence bleue, plus soluble dans l'eau bouillante, insoluble ou peu soluble dans l'alcool et l'éther, très soluble dans l'alcool acétique et l'éther acétique.

L'esculoside se dédouble, sous l'influence des acides ou de l'émulsine, en glucose et esculétol. L'esculétol est une dioxycoumarine.

Traité par l'acide azotique et aussitôt après par l'ammoniaque, l'esculoside donne une coloration rouge violacé.

A côté de l'esculoside, l'écorce de Marronnier contient un tanin, l'acide esculitannique qui, comme l'a montré A. Goris [27], existe dans les mêmes cellules que l'esculoside et formerait avec lui une combinaison.

Enfin l'écorce de Marronnier renferme également du saccharose et des sucres réducteurs libres.

Principe des dosages.

Comme dans les travaux précédents, nous avons suivi les variations des glucides sous l'influence du chloroforme grâce à la méthode biochimique de Bourquelot. Les méthodes de travail n'ont guère différé d'avec les expériences précédentes, à cela près que nous opérions sur une écorce au lieu d'opérer sur des feuilles, et que, les liqueurs après défécation étant incolores, il a été possi-

ble d'opérer directement sur des liqueurs dont 100 cm³ représentaient 100 grammes d'écorce.

Nous allons donner d'ailleurs, comme pour l'*Aucuba* et le Troène, le détail complet d'une de nos expériences.

Détail d'une expérience.

Les écorces employées sont détachées au couteau de rameaux dont le diamètre ne dépasse pas 2 à 3 centimètres. Les lambeaux d'écorce ainsi obtenus sont mis en tas et brassés longuement de façon à homogénéiser la masse. On prélève ensuite sur cette masse des lots pesant 100 grammes chacun, sur lesquels porteront les expériences.

On opérera toujours en comparant un lot chloroformé avec un lot témoin laissé à l'air libre, ces deux lots étant stabilisés en même temps.

Chaque lot est stabilisé en introduisant les écorces dans un litre d'alcool à 95° bouillant, additionné de carbonate de chaux, sans interrompre l'ébullition. Après 1 heure d'ébullition la liqueur bouillante est jetée sur filtre. La filtration terminée, les écorces sont placées dans une capsule et mises à sécher à l'étuve à 40°. Après dessiccation, les écorces sont broyées au moulin et la poudre ainsi obtenue est épuisée deux fois avec 500 cm³ d'alcool à 80° à l'ébullition, pendant 1 heure. Les liqueurs alcooliques sont remises dans le même ballon et sont distillées dans le vide partiel jusqu'à consistance sirupeuse. Le résidu est repris par l'eau toluénée au bain-marie. La liqueur aqueuse est complétée à 100 cm³ après filtration et refroidissement.

Examen direct. — La liqueur est déféquée de la façon suivante : 25 cm³ de cette liqueur sont mesurés exactement dans un ballon jaugé de 50 cm³ et additionnés de 5 cm³ de sous-acétate de plomb, puis on complète à 50 cm³ avec de l'eau distillée. On filtre. Le filtrat est incolore mais fluorescent, cette fluorescence étant due

à l'esculoside en solution. Sur ce filtrat, on pratique l'examen polarimétrique :

$$\rho = + 28'$$

ce qui fait, pour la liqueur non déféquée :

$$\rho = + 56'$$

Ce chiffre de déviation correspond à la liqueur initiale dont 100 cm³ représentent 100 grammes d'écorces.

La quantité de sucre réducteur exprimée en glucose et dosé par la méthode de G. Bertrand sur 10 cm³ de liqueur est de 28 mg.,84.

Pour 100 cm³ de liqueur non déféquée, la quantité de glucose est de 576 mg.,8

ce qui correspond à 100 grammes d'écorces.

Examen après invertine. — La liqueur est additionnée d'invertine et mise à l'étuve à 30° jusqu'à ce que la déviation polarimétrique ne varie plus. 25 cm³ de cette liqueur sont additionnés comme précédemment de sous-acétate de plomb, puis complétés à 50 cm³. On filtre. Sur le filtrat, l'examen polarimétrique est pratiqué :

$$\rho = - 32'$$

ce qui fait pour la liqueur non déféquée :

$$\rho = - 1°4'$$

Ce chiffre correspond à une liqueur dont 100 cm³ représentent 100 grammes d'écorces.

La quantité de sucre réducteur exprimée en glucose dosé sur 10 cm³ de liqueur, est de : 92 mg.,44.

ce qui fait pour 100 cm³ de liqueur non déféquée :

$$92{,}44 \times 2 \times 10 = 1848 \text{ mg.,8}$$

ce qui correspond à 100 grammes d'écorces.

Recul de la déviation après invertine : 2°

Sucre réducteur formé sous l'action de l'invertine : 1 g.,272 .

$$\textit{Indice :} \frac{1272 \times 60}{120} = 636.$$

Examen après émulsine. — La liqueur primitive, après action de l'invertine, est portée au bain-marie bouillant pour détruire l'invertine. Après refroidissement on y ajoute de l'émulsine et on laisse à l'étuve à 30° jusqu'à ce que la déviation polarimétrique reste constante.

Sur la liqueur déféquée dans les mêmes conditions que précédemment, on pratique l'examen polarimétrique :

$$\rho = + 12'$$

ce qui fait pour la liqueur non déféquée :

$$\rho = + 24'$$

La quantité de sucre réducteur exprimée en glucose dosé sur 10 cm³ de liqueur est de 108 mg.,66.

ce qui fait pour 100 cm³ de liqueur non déféquée :

$$108{,}66 \times 10 \times 2 = 2173 \text{ mg.,2}$$

ce qui correspond à 100 grammes d'écorces.

Retour de la déviation : 1°28'

Glucose formé sous l'action de l'émulsine : 0 g.,325.

$$\textit{Indice} : \frac{325 \times 60}{88} = 221.$$

CHAPITRE II.

Action du chloroforme en vapeur saturante.

Les écorces détachées des rameaux en lambeaux de 0 m. 10 de long sont mises en tas et brassées longuement pour homogénéiser la masse. Sur ce tas, on prélève 4 lots pesant 100 grammes chacun et très comparables entre eux.

Deux de ces 4 lots sont mis sous la cloche à vide à côté de récipients à large ouverture renfermant du chloroforme. Le vide de l'air est fait sous la cloche et les écorces se trouvent alors en vapeur saturante de chloroforme. Les deux autres lots devant servir de témoins sont laissés à l'air libre.

Au bout de 2 heures, un lot chloroformé est retiré de la cloche et stabilisé. Un lot témoin est stabilisé en même temps.

Au bout de 8 heures, le deuxième lot chloroformé est retiré de la cloche et stabilisé en même temps que le deuxième lot témoin.

Les écorces sont stabilisées et épuisées comme il a été dit au chapitre précédent. On effectue de même les distillations et les reprises par l'eau qui donnent des liqueurs sur lesquelles les variations des glucides sont suivies à l'aide de la méthode biochimique de Bourquelot.

Les résultats de ces expériences sont condensés dans les tableaux suivants :

TABLEAU XIV.— Action du chloroforme en vapeur saturante sur l'écorce d'*Aesculus Hippocastanum* L.
(Chiffres ramenés à 100 cm³ de liqueur représentant 100 g. d'écorce fraîche).

	Témoin 2 h.	$CHCl^3$ 2 h.	Témoin 8 h.	$CHCl^3$ 8 h.
Déviation :				
Initiale	+ 56'	+ 1° 4'	+ 52'	+ 1°12'
Après invertine	— 1° 4'	— 32'	— 52'	— 24'
Après émulsine	+ 24'	+ 40'	+ 28'	+ 28'
Sucres réducteurs :				
Initiaux	0 g.,576	0 g.,623	0 g.,576	0 g.,731
Après invertine	1 g.,848	1 g.,895	1 g.,848	1 g.,931
Après émulsine	2 g.,173	2 g. 206	2 g.,184	2 g.,184
Action de l'invertine :				
Recul de la déviation	2°	1°36'	1°44'	1°36'
Sucre réducteur formé	1 g.,272	1 g ,272	1 g.,272	1 g.,200
Indice	636	795	733	750
Action de l'émulsine :				
Retour de la déviation	1°28'	1°12'	1°20'	52'
Sucre réducteur formé	0 g.,325	0 g.,311	0 g.,336	0 g.,253
Indice	221	259	252	292

TABLEAU XV. — Etude de la variation des glucides dans chaque lot chloroformé, comparativement à son témoin.

I. — Action du chloroforme pendant 2 heures.

S. R. initial.....	Augmentation.	Absolue	par rapport au témoin : 0 g.,047
		p. 100	par rapport au témoin : 8,1 p 100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Pas de changement.		
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution...	Absolue	par rapport au témoin : 0 g.,01
		p. 100	par rapport au témoin : 3 p. 100

II. — Action du chloroforme pendant 8 heures.

S. R. initial.....	Augmentation.	Absolue	par rapport au témoin : 0 g.,155
		p. 100	par rapport au témoin : 26,9 p.100
S. R. formé sous l'action de l'invertine.	Diminution...	Absolue	par rapport au témoin : 0 g.,072
		p. 100	par rapport au témoin : 5,6 p. 100
S. R. formé sous l'action de l'émulsine.	Diminution...	Absolue	par rapport au témoin : 0 g.,083
		p. 100	par rapport au témoin : 24,7 p.100

CONCLUSIONS.

1° Dans l'expérience précédente, on constate une faible augmentation des sucres réducteurs initiaux par rapport au témoin. Au bout de 2 heures, cette augmentation est insignifiante ; au bout de 8 heures elle est de 26,9 p. 100, ce qui est faible, vu la longue durée d'action du chloroforme.

2° La proportion d'osides dédoublés par l'invertine est minime dans cette expérience. Au bout de 2 heures il n'y a pas eu encore de dédoublement et au bout de 8 heures on constate seulement une proportion de 8 p. 100 d'osides dédoublés.

Les indices biochimiques sont tous légèrement supérieurs à l'indice théorique du saccharose, les chiffres variant de 636 à 795.

3° La proportion d'hétéroside dédoublé est de 4,3 p. 100 au bout de 2 heures et de 24,7 p. 100 au bout de 8 heures. Cette proportion est faible, vu la longue durée d'action du chloroforme et diffère des résultats obtenus avec les feuilles dans les expériences précédentes. Cette différence d'action peut être due à la pénétration plus difficile du chloroforme à travers les tissus de l'écorce, plus compacts que ceux des feuilles. Mais on peut encore attribuer le faible dédoublement de l'esculoside à la présence d'acide esculitannique (A. Goris [27]) qui, comme on l'a vu, existe dans les mêmes cellules que l'hétéroside. Il y aurait là un nouvel exemple de l'action inhibitrice des tanins sur les diastases. Un fait de cet ordre a d'abord été signalé par Hérissey en ce qui concerne l'émulsine, dont l'action est inhibée, *in vitro*, par le tanin [37]. D'autre part, Mlle Fichtenholz [26] a montré que, dans la recherche de l'arbutoside (arbutine) dans la Busserole, la présence des tanins entrave l'action de l'émulsine.

QUATRIÈME PARTIE.

Expériences sur l'Orge.

CHAPITRE PREMIER.

Etude chimique de l'Orge et détails sur la marche des expériences.

Dans les expériences qui vont suivre, on a voulu étudier l'action du chloroforme sur l'évolution des glucides au cours de la germination de l'Orge. Ce travail porte sur les sucres réducteurs, le saccharose et l'amidon de l'Orge. Cette étude avait déjà été entamée dans des expériences antérieures, mais elle avait dû être interrompue faute d'une méthode convenable pour doser l'amidon. La publication récente d'une méthode biochimique de dosage de l'amidon dans les végétaux par Mlle Bourdouil [8] a permis de reprendre ces recherches.

Nous allons relater deux expériences faites dans un esprit différent. Dans la première, on a fait agir le chloroforme en vapeur saturante pendant 12, 24 et 48 heures sur de l'Orge en germination, pendant que des lots semblables, devant servir de témoins, étaient laissés à l'air libre. Dans la deuxième expérience, qui s'inspire des méthodes de forçage, on a fait agir le chloroforme pendant un temps très court sur de l'Orge en germination, que l'on a remis ensuite à germer dans les conditions normales.

Avant de donner le détail des expériences, disons quelques mots de la composition et des phénomènes chimiques qui accompagnent la germination de l'Orge.

Composition de l'Orge.

Les hydrates de carbone de l'Orge sont constitués par de l'amidon, de la dextrine et des sucres. Ch. Tanret [69] a extrait de l'Orge la lévosine, hydrate de carbone condensé qui, hydrolysé par les acides, donne du lévulose ; l'Orge contient 8 p. 1000 de lévosine en moyenne, rapporté à la matière sèche.

L'Orge renferme également des substances azotées, des substances grasses et des substances minérales.

P. Petit [60] donne la composition suivante de l'Orge, moyenne de très nombreux dosages, où les chiffres sont exprimés pour 100 grammes de matière sèche :

Amidon(et autres hydrates de carbone)	58 à 72,5 p. 100
Cendres	1,8 à 3,2 p. 100
Acide phosphorique	0,6 à 1,15 p. 100
Matières azotées	7,3 à 17,6 p. 100

Transformations chimiques au cours de la trempe et de la germination de l'Orge.

Avant de leur fair subir la germination, les fruits d'Orge subissent une trempe plus ou moins prolongée. Déjà, au cours de cette opération, la composition chimique de l'Orge varie. Le sucre réducteur et le saccharose augmentent. P. Petit [60] donne les chiffres suivants sur les variations des sucres au cours de la trempe :

	Orge nature	Après 24 h.	Après 48 h.	Après 72 h.
Sucre réducteur en glucose en mg. p. 100 de grains ..	24 mg.	29 mg.	30 mg.	31 mg.
Saccharose en mg. p. 100 de grains.....	214 mg.	230 mg.	260 mg.	307 mg.

Pendant la germination, ces phénomènes s'accentuent ; nous empruntons également à P. Petit [60] ces chiffres qui indiquent l'accroissement du saccharose et des sucres réducteurs au cours de la germination de l'Orge :

	1er jour	2e jour	3e jour	4e jour	5e jour
Saccharose	413 mg.	420 mg.	426 mg.	433 mg.	437 mg.
Sucre réducteur en glucose..... ..	49 mg.	86 mg.	187 mg.	269 mg.	319 mg.

Principe des dosages.

Les variations des glucides de l'Orge ont été suivies grâce à la méthode biochimique de Bourquelot, mais limitée à l'action de l'invertine, l'Orge ne contenant pas de glucides dédoublables par l'émulsine. Les dosages d'amidon ont été effectués suivant la méthode biochimique de Mlle Bourdouil [8] dont voici la technique générale :

« On projette les plantes dans l'alcool bouillant suivant la technique de Bourquelot et on les épuise par ébullition pendant 20 minutes dans l'alcool par deux fois. Il est nécessaire que, dans chaque opération, le titre final de l'alcool soit supérieur à 60°. Il faudra, pour le calculer, faire intervenir la teneur en eau des plantes. Au-dessous de ce titre, il y a commencement de solubilisation de l'amidon, qui peut fausser les résultats. On broie finement le résidu insoluble dans l'alcool. On fait un empois avec cet amidon finement pulvérisé. Le liquide refroidi est additionné de 0 g.,50 environ de poudre de pancréas et mis à l'étuve à 40°. Au bout de 4 jours, on dose le sucre réducteur formé ».

D'après Mlle Bourdouil, qui a fait des essais sur des Céréales et sur le Pois, au bout de 4 jours, 1 gramme d'amidon donne 1 gramme de sucre réducteur.

Détail d'une expérience.

La totalité des fruits d'Orge sur lesquels on veut opérer est mise à tremper 24 heures dans l'eau froide.

Après ce traitement, on fait plusieurs lots de 100 grammes chacun et on dispose chaque lot dans des germoirs sur du sable humide recouvert d'une feuille de papier filtre ; on laisse alors germer à la serre à une température de 15 à 20°, en arrosant fréquemment.

Quant les fruits ont suffisamment germé, on les traite suivant l'une ou l'autre des techniques exposées plus loin, et on les stabilise. Les fruits destinés à être stabilisés sont jetés dans 1 litre d'alcool à 95° bouillant, sans interrompre l'ébullition. Après 1 heure d'épuisement, la liqueur bouillante est jetée sur filtre ; on remplace alors l'alcool décanté par 500 cm^3 d'alcool à 80° et on épuise à nouveau pendant 1 heure à l'ébullition. On répète cette dernière opération une seconde fois avec la même quantité d'alcool à 80°. Les liqueurs alcooliques sont réunies et distillées dans le vide partiel jusqu'à consistance sirupeuse ; le résidu est repris par l'eau toluénée au bain-marie. La liqueur aqueuse est complétée, après filtration et refroidissement, à 100 cm^3. On opère donc ainsi sur une liqueur dont 100 cm^3 correspondent à 100 grammes de fruits trempés.

Examen direct. — La liqueur est déféquée de la façon suivante :

25 cm^3 de cette liqueur sont mesurés exactement dans un ballon jaugé de 50 cm^3, et additionnés de 5 cm^3 de sous-acétate de plomb, puis on complète à 50 cm^3 avec de l'eau distillée. On filtre, sur le filtrat ; on pratique l'examen polarimétrique :

$$\rho = + 26'$$

ce qui fait pour la liqueur non déféquée :

$$\rho = + 52'$$

Ce chiffre de déviation correspond à la liqueur initiale dont 100 cm³ représentent 100 grammes de fruits.

La quantité de sucre réducteur, exprimée en glucose et dosé par la méthode de G. BERTRAND sur 10 cm³ de liqueur déféquée, est de 19 mg.,2.

Pour 100 cm³ de liqueur non déféquée la quantité de glucose est de :

$$19{,}2 \times 2 \times 10 = 384 \text{ mg.}$$

ce qui correspond à 100 grammes de fruits.

Examen après invertine. — La liqueur primitive est additionnée d'invertine et mise à l'étuve à 30° jusqu'à ce que la déviation polarimétrique ne varie plus.

25 cm³ de cette liqueur sont additionnés comme précédemment de sous-acétate de plomb, puis complétés à 50 cm³. Après filtration on pratique l'examen polarimétrique :

$$\rho = + 6'$$

ce qui fait pour la liqueur non déféquée :

$$\rho = + 12'$$

ce qui correspond à la liqueur initiale dont 100 cm³ représentent 100 grammes de fruits.

La quantité de sucre réducteur exprimée en glucose dosé sur 10 cm³ de liqueur déféquée est de : 43 mg.,83.

ce qui fait pour 100 cm³ de liqueur non déféquée :

$$43{,}83 \times 2 \times 10 = 876 \text{ mg.}$$

ce qui correspond à 100 grammes de fruits trempés.

Recul de la déviation après invertine : 40'

Sucre réducteur formé sous l'action de l'invertine : 0 g.,492.

$$\textit{Indice :} \quad \frac{492 \times 60}{40} = 738$$

Dosage de l'amidon. — Les fruits d'Orge ayant subi les 3 épuisements alcooliques décrits précédemment, sont mis à déssécher à l'étuve à 60° et pulvérisés grossièrement. On place cette poudre pendant 1 heure à l'étuve à 100° et on pulvérise à nouveau. On détermine alors le poids de poudre obtenue (53 grammes pour le cas que nous décrivons) ; il permettra de ramener le poids d'amidon trouvé ,aux 100 grammes d'Orge fraîchement trempé sur lesquels on a opéré (1).

Après avoir bien homogénéisé la poudre finement pulvérisée on en pèse exactement 1 gramme, avec lequel on fait un empois à l'aide d'eau bouillante. Cet empois refroidi, on le verse dans une fiole jaugée de 100 cm^3, on lave à l'eau froide le vase ayant contenu l'empois et on complète à 100 cm^3 avec ces eaux de lavage.

On additionne le liquide de 0 g.,50 d'extrait pancréatique (2), et on met à l'étuve à 40°. Au bout de 4 jours, on retire de l'étuve. La liqueur est alors déféquée de la façon suivante : 25 cm^3 de liqueur sont mesurés exactement dans une fiole jaugée de 50 cm^3, on y ajoute 5 cm^3 de sous-acétate de plomb et on complète à 50 cm^3 avec de l'eau distillée. On filtre. Sur 10 cm^3 de filtrat on dose le sucre réducteur par la méthode de G. Bertrand. La quantité trouvée exprimée en glucose est de 21 mg.,53 ce qui fait pour 100 cm^3 de liqueur non déféquée :

$$21{,}53 \times 2 \times 10 = 430 \text{ mg.,6}$$

La quantité d'amidon correspondant à 100 grammes de fruits trempés est de :

$$0 \text{ g.,43} \times 53 = 22 \text{ g.,79}$$

(1) La teneur en eau de l'Orge sur lequel on opère importe peu, puisqu'on connaît le rapport entre son poids et celui de l'Orge trempé.

(2) Nous avons employé l'extrait pancréatique Choay. Des essais préalables sur des empois d'amidon ont permis de vérifier que le produit hydrolysait parfaitement l'amidon.

CHAPITRE II.

Action prolongée du chloroforme en vapeur saturante.

Ces expériences ont été conduites de la façon suivante :

Après avoir fait subir à la totalité des fruits une trempe de 24 heures, on fait 6 lots de 100 grammes chacun. Chacun de ces lots est mis sur un germoir et porté à la serre à une température de 20°. Au bout de 48 heures de germination, on retire 3 germoirs que l'on met sous une cloche à vide en présence de récipients ouverts contenant du chloroforme. On fait le vide d'air sous la cloche. Les fruits se trouvent en vapeur saturante de chloroforme. Au bout de 12 heures d'action du chloroforme, on retire un des germoirs de la cloche, et on stabilise l'Orge qu'il contient en même temps que l'Orge d'un germoir laissé à la serre et qui doit servir de témoin.

Au bout de 24 heures d'action du chloroforme, on retire un second germoir de la cloche et on stabilise l'Orge qu'il contient en même temps que l'Orge d'un second germoir laissé à la serre dans les conditions normales.

Enfin, au bout de 48 heures d'action du chloroforme, on retire le dernier germoir laissé sous la cloche et on le stabilise en même temps que le troisième germoir laissé à la serre dans les conditions normales.

Il est à noter que l'Orge soumis au chloroforme n'a pas continué à germer.

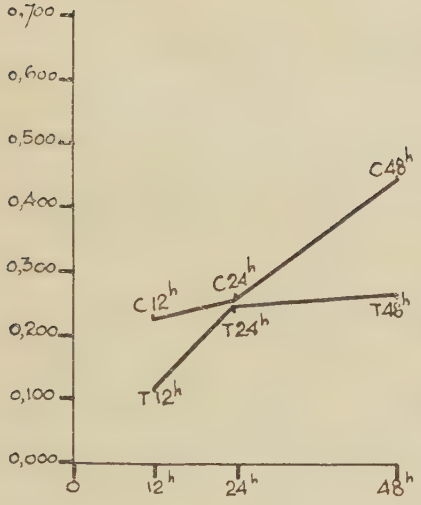
Les fruits sont traités comme il a été dit dans le chapitre précédent et les résultats obtenus sont condensés dans les tableaux et les courbes qui suivent :

TABLEAU XVI. — Action prolongée du chloroforme en vapeur saturante sur de l'Orge ayant subi une germination de 48 heures.

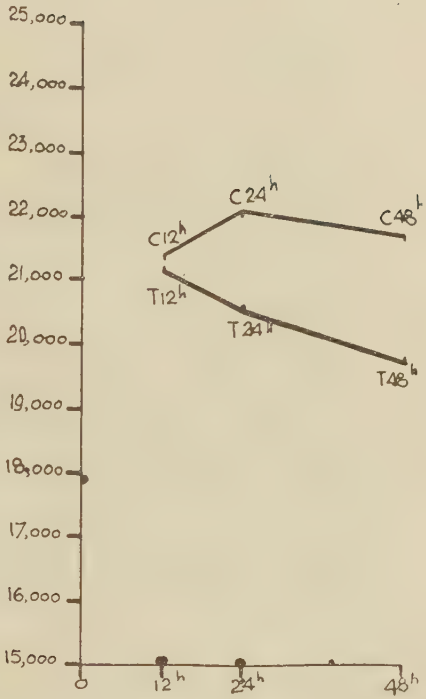
(100 cm³ de liqueur représentent 100 g. d'Orge fraîchement trempé).

	Témoin 12 h.	$CHCl^3$ 12 h.	Témoin 24 h.	$CHCl^3$ 24 h.	Témoin 48 h.	$CHCl^3$ 48 h,
DÉVIATION :						
Initiale	+ 16'	+ 14'	+ 26'	+ 14'	+ 24'	+ 26'
Après invertine	+ 8'	+ 12'	+ 16'	+ 14'	+ 12'	+ 26'
SUCRES RÉDUCTEURS :						
Initiaux	0 g.,117	0 g.,224	0 g.,243	0 g.,255	0 g.,262	0 g.,448
Après invertine	0 g.,211	0 g.,250	0 g.,341	0 g.,255	0 g.,380	0 g.,448
ACTION DE L'INVERTINE ;						
Recul de la déviation	8'	2'	10'	0	12'	0
Sucre réducteur formé	0 g..094	0 g.,026	0 g..098	0	0 g.,118	0
Indice	705	783	588	—	590	—
DOSAGES D'AMIDON ;						
Chiffres rapportés à 100 g. d'Orge trempé	21 g.,10	21 g.,4	20 g ,53	22 g.,062	19 g.,7	21 g.,70

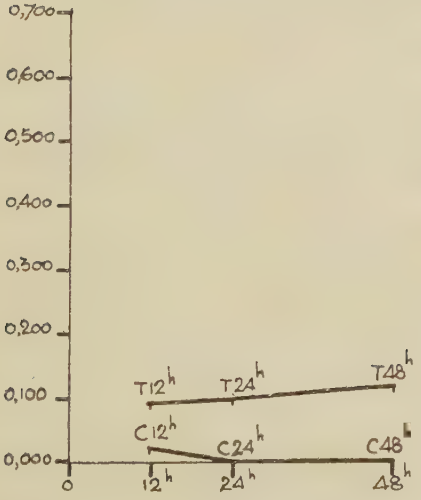
Action prolongée du chloroforme en vapeur saturante sur les grains d'Orge ayant subi une germination de 48 heures.



Sucres réducteurs



Amidon



Saccharose

CONCLUSIONS.

Des tableaux et des courbes qui précèdent on déduit que :

1° Les sucres réducteurs des fruits témoins, croissent avec le temps de germination. Ce phénomène est déjà connu.

On constate que les sucres réducteurs des fruits chloroformés sont toujours supérieurs aux sucres réducteurs des fruits témoins, et que la courbe des sucres réducteurs de l'Orge chloroformé croît continuellement avec le temps et plus rapidement que la courbe des fruits témoins.

2° Le saccharose de l'Orge témoin augmente avec le temps de germination, comme cela est déjà connu. Mais on constate que le saccharose de l'Orge chloroformé au bout de 12 heures est inférieur au témoin correspondant et que ce saccharose a complètement disparu au bout de 24 heures. On peut donc conclure que l'action du chloroforme sur l'Orge a pour effet d'hydrolyser le saccharose qu'il contient.

3° L'amidon, dans les lots témoins, diminue progressivement avec le temps, comme il est normal, puisqu'au cours de la germination les sucres se forment aux dépens de l'amidon.

Dans les lots chloroformés, il n'en est pas de même ; l'amidon demeure à peu près stationnaire, ce qui s'explique par l'arrêt de la germination causé par le chloroforme.

CHAPITRE III.

Action brève du chloroforme en vapeur saturante.

Ces expériences ont été conduites de la façon suivante :

L'Orge ayant subi une trempe de 24 heures, on fait 8 lots de 100 grammes chacun. Chacun de ces lots est mis sur un germoir et porté à la serre à une température de 20°. Au bout de 48 heures de germination on retire 4 germoirs et on les met sous une cloche à vide en présence de récipients ouverts contenant du chloroforme. On fait le vide de l'air sous la cloche et l'Orge se trouve ainsi en vapeur saturante. Au bout d'une demi-heure on retire les germoirs de la cloche. Un des lots chloroformés est alors stabilisé, en même temps qu'un lot témoin laissé dans les conditions normales à la serre. Ce sont les lots C_1 et T_1.

On remet ensuite les lots chloroformés, à la serre, à germer dans les conditions normales.

Au bout de 24 heures on stabilise un lot chloroformé en même temps qu'un lot témoin. Ce sont les lots C_2 et T_2.

Au bout de 48 heures on stabilise un lot chloroformé en même temps qu'un autre lot témoin. Ce sont les lots C_3 et T_3.

Enfin, au bout de 72 heures, on stabilise le dernier lot chloroformé en même temps que le dernier lot témoin. Ce sont les lots C_4 et T_4.

La germination semble s'être arrêtée chez tous les fruits chloroformés.

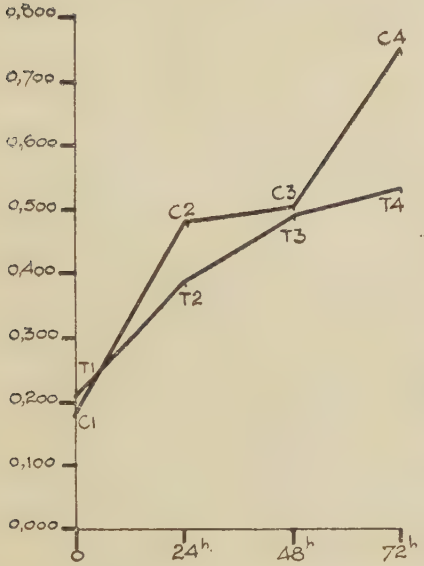
L'Orge a subi les mêmes traitements que précédemment et les résultats obtenus sont consignés dans les tableaux et les courbes qui suivent :

TABLEAU XVII. — Action du chloroforme en vapeur saturante pendant 1/2 heure sur de l'Orge ayant germé 48 heures et remis à la serre après action de l'anesthésique.

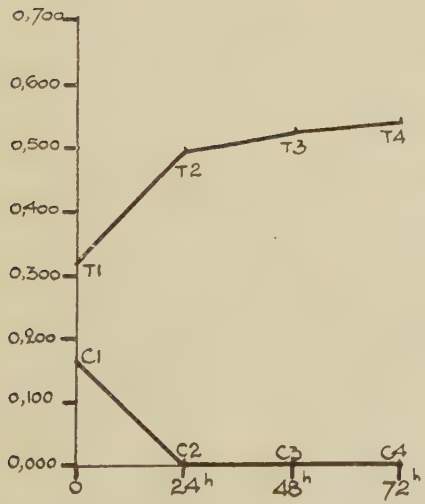
(100 cm³ de liqueur représentant 100 g. d'Orge fraîchement trempé).

	T_1	C_1	T_2	C_2	T_3	C_3	T_4	C_4
DÉVIATION :								
Initiale	+ 36'	+ 40'	+ 52'	+ 32'	+ 1°	+ 28'	+ 44'	+ 32'
Après invertine	+ 8'	+ 20'	+ 12'	+ 32'	+ 12'	+ 28'	— 6'	+ 32'
SUCRES RÉDUCTEURS :								
Initiaux	0 g.,207	0 g.,182	0 g.,384	0 g.,476	0 g.,488	0 g.,505	0 g.,532	0 g.,748
Après invertine	0 g.,522	0 g. 346	0 g.,876	0 g.,476	1 g.,007	0 g.,505	1 g.,069	0 g.,748
ACTION DE L'INVERTINE :								
Recul de la déviation	28'	20'	40'	0	48'	0	50'	0
Sucre réducteur formé	0 g.,315	0 g.,164	0 g.,492	0	0 g.,519	0	0 g.,537	0
Indice	675	492	738	—	648	—	644	—
DOSAGES D'AMIDON :								
Chiffres rapportés à 100 g. d'Orge trempé	29 g.,6	29 g.,9	22 g.,7	24 g.,9	22 g.,5	22 g.,9	22 g.,37	22 g.,16

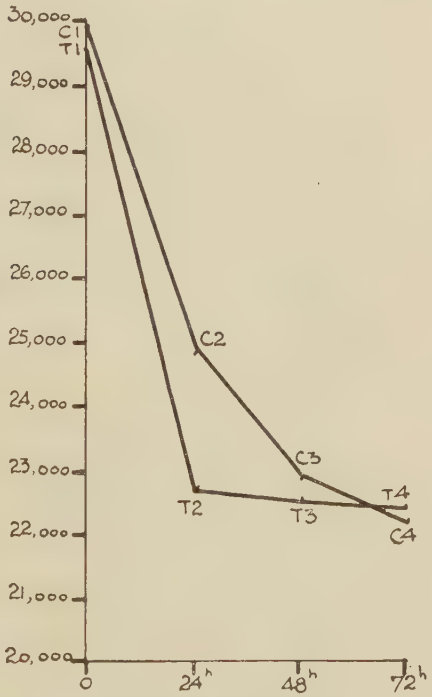
Action du chloroforme en vapeur saturante pendant 1/2 heure sur des grains d'Orge ayant germé 48 heures et remis à la serre après l'action de l'anesthésique.



Sucres réducteurs



Saccharose



Amidon

CONCLUSIONS.

Des tableaux et des courbes qui précèdent on déduit que :

1° Les sucres réducteurs de l'Orge témoin croissent avec les temps de germination, ce qui est connu. Les sucres réducteurs de l'Orge chloroformé pendant 1/2 heure et stabilisé immédiatement sont de même ordre que ceux du témoin correspondant. Mais chez les lots chloroformés remis à germer dans les conditions normales, les sucres réducteurs croissent beaucoup plus vite que ceux des témoins et leur sont toujours supérieurs.

2° Le saccharose de l'Orge témoin augmente avec le temps de germination, ce qui est connu. Le saccharose du lot chloroformé et stabilisé immédiatement est inférieur à celui du lot témoin correspondant ; dans les lots chloroformés et remis à germer dans les conditions normales, le saccharose a complètement disparu. Cette disparition du saccharose sous l'action du chloroforme a déjà été constatée dans les expériences du chapitre précédent où nous avions fait agir le chloroforme beaucoup plus longtemps.

3° L'amidon se trouve en même quantité dans le lot ayant subi l'action du chloroforme et stabilisé immédiatement, que dans le lot témoin stabilisé en même temps. Au bout de 24 heures, le lot témoin contient moins d'amidon que le lot traité.

Au bout de 48 heures et de 72 heures, l'amidon est en quantités sensiblement égales dans les lots témoins et dans les lots traités.

Tout se passe comme si dans les lots ayant subi l'action du chloroforme pendant 1/2 heure, l'anesthésie agissant au début sur l'Orge l'empêchait d'hydrolyser son amidon aussi vite que le témoin, puis l'effet anesthé-

siant faisant place à une excitation il se produirait par la suite une hydrolyse plus intense de l'amidon.

De nouvelles expériences s'imposent, que nous regrettons de n'avoir pu réaliser.

CINQUIÈME PARTIE.

Expériences sur les Pois.

CHAPITRE PREMIER.

Composition du Pois et détails sur la marche des expériences.

Les Légumineuses ont été étudiées au point de vue chimique par de nombreux auteurs. En 1909 Em. Bourquelot et M. Bridel [13] ont extrait le raffinose des semences d'*Erythrina fusca* Lour. et d'*Entada scandens* Benth.. En 1913, G. Tanret [70] a découvert la présence de stachyose dans les Pois ridés. En 1924 H. Hérissey et R. Sibassié [39] ont étudié au point de vue biochimique quelques graines de Légumineuses. Enfin, un travail récent de M. Bridel et de Mlle C. Bourdouil [19 bis] a donné des précisions sur les glucides contenus dans les Pois et sur leur évolution au cours de la formation de la graine.

Les expériences que nous allons relater portent uniquement sur des Pois à graines ridées et vertes. Cette variété de Pois a été choisie de préférence aux autres, parce qu'elle contient du stachyose et qu'il était intéressant d'étudier son comportement, en même temps que celui des autres glucides du Pois, sous l'influence du chloroforme.

De même que pour l'Orge, ces expériences avaient été entreprises autrefois et n'avaient pu être menées à bon terme, faute d'avoir une méthode sûre pour doser l'amidon. La méthode biochimique de dosage de l'amidon due à Mlle C. Bourdouil nous a permis de reprendre ces travaux.

Nous allons relater deux séries d'expériences faites dans un esprit différent. Dans la première série on fait agir longuement le chloroforme sur les graines en germination. Dans la deuxième on fait agir le chloroforme très peu de temps sur les graines et on les remet ensuite à germer dans les conditions normales. Cette dernière série s'inspire des méthodes dites de forçage.

Composition des Pois ridés.

Les renseignements que nous donnons sur la composition des Pois ridés ont été puisés dans le travail déjà cité de M. Bridel et Mlle Bourdouil.

Les Pois ridés renferment des sucres réducteurs, du saccharose et un autre holoside, le stachyose qui fut découvert par G. Tanret. Le stachyose est partiellement hydrolysable par l'invertine en donnant du manninotriose, triholoside réducteur qui, hydrolysé par l'émulsine, donne deux molécules de galactose et une molécule de glucose.

Au cours de leurs essais, Bridel et Mlle Bourdouil ont conclu qu'à côté de ces corps il devait exister dans le Pois ridé d'autres principes glucidiques hydrolysables par l'émulsine et différents du manninotriose, car l'indice de réduction enzymolytique trouvé pour les sucres dédoublés par l'émulsine n'est pas celui du manninotriose, qui est 386.

« Ce ou ces principes, disent Bridel et Mlle Bour-
« douil, ne sont pas réducteurs et les résultats de l'es-
« sai ne permettent pas de reconnaître leur nature. A

« cause de leur présence, il est impossible de déterminer « la quantité de stachyose et de saccharose existant « dans la graine ».

Cependant les auteurs indiquent que toutefois ces principes inconnus se trouvent en moindre proportion dans les Pois ridés que dans les Pois ronds.

Principe des dosages.

Pour étudier l'évolution des glucides contenus dans les Pois en expérience, on a employé la méthode suivante donnée par M. Bridel et Mlle Bourdouil [19 bis].

Les graines sont projetées dans l'alcool à 95° bouillant suivant la méthode de Bourquelot de façon à effectuer la destruction des ferments qu'elles peuvent contenir. Les graines sont ensuite épuisées complètement par deux fois avec de l'alcool à 75°. Le résidu insoluble est recueilli, lavé à l'alcool, séché et mis de côté. Il est utilisé pour le dosage de l'amidon suivant la méthode biochimique à la poudre de pancréas de Mlle C. Bourdouil [8].

1° Les solutions alcooliques sont réunies, filtrées et distillées à sec. Le résidu est repris par l'eau distillée et la solution est amenée à un volume déterminé. Sur cette solution sont effectués, d'abord le dosage des sucres réducteurs par le procédé de G. Bertrand, puis le dosage du saccharose par la méthode à l'invertine de Bourquelot.

Mais, d'après la composition du Pois ridé, nous savons qu'à côté du saccharose, le stachyose sera partiellement hydrolysé par l'invertine. Dans ces conditions, le sucre réducteur formé par l'invertine provient à la fois de l'hydrolyse du saccharose et de l'hydrolyse du stachyose. Pour chercher à savoir la quantité de ce sucre réducteur qui revient à chacun d'eux Bridel et Mlle Bourdouil ont opéré de la façon suivante ;

Une fois l'action de l'invertine terminée, la rotation du liquide déterminée, ainsi que sa teneur en sucres réducteurs, ils ont fait agir l'émulsine. Le manninotriose, triholoside réducteur formé au cours de l'hydrolyse du stachyose par l'invertine, est hydrolysé par l'émulsine, avec formation de deux molécules de galactose et d'une molécule de glucose. Cette hydrolyse est lente et il faut plus d'un mois pour qu'elle soit totale. Elle se manifeste par une diminution de la rotation droite et par une augmentation du sucre réducteur.

Pour obtenir la quantité de stachyose existant dans le liquide avant l'essai, on multiplie, par le facteur 1,889, le sucre réducteur formé par l'émulsine. Le chiffre trouvé, multiplié par le facteur 0,52 donnera la quantité de sucre réducteur formé par l'invertine aux dépens du stachyose. En retranchant cette quantité du sucre réducteur formé par l'invertine, on obtient un reste qui doit représenter le sucre réducteur provenant du saccharose. En multipliant ce reste par le facteur 0,95 on obtient la quantité de saccharose existant dans l'essai.

2° Les grains épuisés et séchés sont pesés et servent au dosage de l'amidon à l'aide de la méthode biochimique de Mlle C. Bourdouil [8] dont le principe a été donné précédemment.

Détail d'une expérience.

La totalité des graines sur lesquelles on veut opérer est mise à tremper dans l'eau froide pendant 24 heures.

Après ce traitement, on fait plusieurs lots de 100 grammes chacun, et on dispose chaque lot dans un germoir sur du sable humide recouvert de papier filtre. On laisse alors germer les graines à la serre à une température de 15 à 20° en les arrosant fréquemment.

Quand les graines ont suffisamment germé, on les traite suivant l'une ou l'autre des techniques exposées dans les chapitres suivants et on les stabilise.

Pour la stabilisation, on emploie le procédé habituel de Bourquelot qui consiste à jeter les graines dans 1 litre d'alcool à 95° bouillant, sans interrompre l'ébullition. Après 1 heure d'épuisement la liqueur bouillante est jetée sur filtre, on remplace alors l'alcool décanté par 500 cm³ d'alcool à 80° et on épuise à nouveau pendant 1 heure. On répète une seconde fois cette dernière opération avec la même quantité d'alcool à 80°. Les liqueurs alcooliques sont réunies et distillées dans le vide partiel jusqu'à consistance sirupeuse ; le résidu est repris par l'eau toluénée au bain-marie. La liqueur aqueuse est complétée, après filtration et refroidissement, à 100 cm³. On opère donc ainsi sur une liqueur dont 100 cm³ représentent 100 grammes de graines non germées.

Examen direct. — La liqueur est déféquée de la façon suivante :

25 cm³ de cette liqueur sont mesurés exactement dans un ballon jaugé de 50 cm³, et additionnés de 5 cm³ de sous-acétate de plomb, puis complétés à 50 cm³ avec de l'eau distillée. On filtre. Sur le filtrat, on pratique l'examen polarimétrique :

$$\rho = + 2°10'$$

ce qui fait pour la liqueur non déféquée :

$$\rho = + 4°20'$$

Ce chiffre de déviation correspond à la liqueur initiale dont 100 cm³ correspondent à 100 grammes de graines.

La quantité de sucre réducteur, exprimée en glucose et dosé par la méthode de G. Bertrand sur 10 cm³ de liqueur déféquée est de 13 mg.,55, ce qui fait pour 100 cm³ de liqueur non déféquée :

$$13{,}55 \times 2 \times 10 = 271 \text{ mg.}$$

ce qui correspond à 100 grammes de graines trempées.

Examen après invertine. — La liqueur primitive est additionnée d'invertine et mise à l'étuve à 30° jusqu'à ce que la déviation polarimétrique reste constante.

25 cm³ de cette liqueur sont additionnés comme précédemment de sous-acétate de plomb, puis complétés à 50 cm³. Après filtration, on pratique l'examen polarimétrique :

$$\rho = - 14'$$

ce qui fait pour la liqueur non déféquée :

$$\rho = - 28'$$

ce qui correspond à la liqueur initiale dont 100 cm³ représentent 100 grammes de graines.

La quantité de sucre réducteur, exprimée en glucose et dosé sur 10 cm³ de liqueur déféquée est de : 180 mg.,62.

ce qui fait pour 100 cm³ de liqueur non déféquée :

$$180{,}62 \times 2 \times 10 = 3612 \text{ mg.,25}$$

ce qui correspond à 100 grammes de graines.

Recul de la déviation après invertine : 4°48'

Sucre réducteur formé sous l'action de l'invertine : 3 g.,341.

$$\text{Indice} : \frac{3341 \times 60}{288} = 696.$$

Examen après émulsine. — La liqueur primitive est portée au bain-marie bouillant pour détruire l'invertine et après refroidissement est additionnée d'émulsine. On met alors la liqueur à l'étuve à 30° et on l'y laisse jusqu'à ce que la déviation polarimétrique ne varie plus.

25 cm³ de cette liqueur sont mesurés dans une fiole jaugée de 50 cm³, et additionnés de 5 cm³ de sous-acétate de plomb, on complète à 50 cm³ avec de l'eau distillée et on filtre. Sur le filtrat on pratique l'examen polarimétrique :

$$\rho = - 40'$$

ce qui fait pour la liqueur non déféquée :

$$\rho = -80'$$

ce qui correspond à la liqueur initiale dont 100 cm³ représentent 100 grammes de graines.

La quantité de sucre réducteur, exprimée en glucose et dosé sur 10 cm³ de liqueur est de : 206 mg.

ce qui fait pour 100 cm³ de liqueur non déféquée :

$$206 \times 2 \times 10 = 4120 \text{ mg.}$$

ce qui correspond à 100 grammes de graines.

Recul de la déviation sous l'action de l'émulsine : 52'

Sucre réducteur formé sous l'action de l'émulsine : 0 g.,508.

$$\textit{Indice} : \frac{508 \times 60}{52} = 586.$$

Nous allons calculer maintenant à l'aide des coefficients précédemment donnés, les quantités de saccharose et de stachyose contenues dans les graines en expérience.

Calcul du stachyose. — Pour obtenir la quantité de stachyose on multiplie la quantité de sucre réducteur formée par l'émulsine par le facteur 1,889 soit dans le cas présent :

$$0{,}586 \times 1{,}889 = 0 \text{ g.,}959$$

Calcul du saccharose. — Nous calculons d'abord la quantité de sucre réducteur formée par l'invertine aux dépens du stachyose en multipliant le chiffre du stachyose trouvé par 0,52, soit ici :

$$0{,}959 \times 0{,}52 = 0{,}498$$

On retranche ensuite cette quantité du sucre réducteur formé par l'invertine, soit ici :

$$3{,}341 - 0{,}498 = 2 \text{ g.,}943$$

Ce reste représente le sucre réducteur provenant du

saccharose ; en le multipliant par le facteur 0,95 on obtient le chiffre du saccharose, soit :

$$2{,}943 \times 0{,}95 = 2{,}790$$

Dosage de l'amidon. — Les graines de Pois ayant subi les 3 épuisements alcooliques décrits précédemment sont mises à dessécher à l'étuve à 60°, puis pulvérisées grossièrement. On place la poudre pendant 1 heure à l'étuve à 100° et on pulvérise à nouveau. Le poids de poudre obtenu (28 grammes dans le cas que nous décrivons), nous servira ensuite pour ramener le poids d'amidon à 100 grammes de graines trempées.

Les graines de Pois sont alors broyées finement, d'abord au moulin, ensuite au mortier. Après avoir bien homogénéisé la poudre fine ainsi préparée, on en pèse exactement 1 gramme, avec lequel on fait un empois à l'aide d'eau bouillante. Cet empois refroidi, on le verse dans une fiole jaugée de 100 cm³, on lave à l'eau froide le vase ayant contenu l'empois et on complète à 100 cm³ avec ces eaux de lavage.

On additionne le liquide de 0 g.,50 d'extrait pancréatique (1) et on met à l'étuve à 40°. Au bout de 4 jours on retire de l'étuve. La liqueur est alors déféquée de la façon suivante :

25 cm³ de liqueur sont mesurés exactement dans une fiole jaugée de 50 cm³, on y ajoute 5 cm³ de sous-acétate de plomb et on complète à 50 cm³ avec de l'eau distillée. On filtre. Sur 10 cm³ de filtrat on dose le sucre réducteur par la méthode de G. Bertrand. La quantité trouvée, exprimée en glucose, est de : 5 mg.,1

ce qui fait pour 100 cm³ de liqueur non déféquée :

$$5{,}1 \times 2 \times 10 = 102 \text{ mg.}$$

La quantité d'amidon correspondant à 100 grammes de graines trempées est de :

$$0{,}102 \times 28 = 2 \text{ g.,}84$$

(1) Extrait pancréatique Choay.

CHAPITRE II.

Action prolongée du chloroforme en vapeur saturante.

Ces expériences ont été faites sur une variété de *Pisum sativum* à graines ridées et vertes : « Le Délicieux ».

Les graines, après avoir subi une trempe de 24 heures dans l'eau froide, sont divisées en 4 lots de 100 grammes chacun. Chacun de ces lots est mis sur un germoir à la serre à une température de 15° à 20°. Au bout de 48 heures de germination, on retire les lots de la serre et on stabilise un premier lot qui servira de témoin initial. D'autre part, les 3 autres lots sont mis sous une cloche à vide à côté de récipients à large ouverture renfermant du chloroforme. On fait le vide de l'air sous la cloche et les graines se trouvent alors en vapeur saturante de chloroforme.

Au bout de 6 heures d'action de l'anesthésique, on stabilise un premier lot chloroformé.

Au bout de 12 heures d'action de l'anesthésique, on stabilise un deuxième lot chloroformé.

Au bout de 24 heures d'action de l'anesthésique, on stabilise le dernier lot chloroformé.

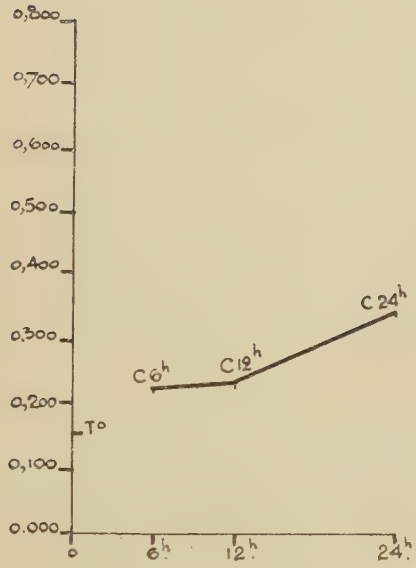
Les graines ont été traitées comme il a été dit dans le chapitre précédent et les résultats sont exposés dans les tableaux et les courbes suivants :

TABLEAU XVIII. — Action prolongée du chloroforme en vapeur saturante sur les graines de Pois « Le Délicieux » ayant subi une germination de 48 heures.

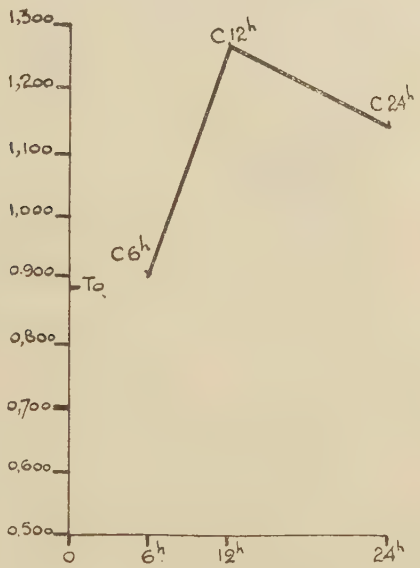
(100 cm³ de liqueur représentent 100 g. de graines pesées après la trempe).

	T. initial	$CHCl^3$ 6 h.	$CHCl^3$ 12 h.	$CHCl^3$ 24 h.
DÉVIATION :				
Initiale	+ 3°26'	+ 3°6'	+ 3°26'	+ 2°46'
Après invertine	— 36'	— 38'	— 38'	— 40'
Après émulsine	— 1°28'	— 1°8'	— 2°18'	— 2°8'
SUCRES RÉDUCTEURS :				
Initiaux	0 g.,162	0 g.,232	0 g.,242	0 g.,355
Après invertine	2 g.,669	2 g.,746	2 g.,906	2 g.,462
Après émulsine	3 g.,138	2 g.,994	3 g.,578	3 g.,066
ACTION DE L'INVERTINE :				
Recul de la déviation	4°52'	3°44'	4°4'	3°26'
Sucre réd. dédoublé	2 g.,506	2 g.,514	2 g.,664	2 g.,107
Indice	621	673	655	613
ACTION DE L'ÉMULSINE :				
Recul de la déviation	52'	30'	1°40'	1°28'
Sucre réd. dédoublé	0 g.,469	0 g.,480	0 g.,672	0 g.,604
Indice	541	964	403	411
DOSAGES D'AMIDON :				
Pour 100 g. de graines trempées	3 g.,999	4 g.,02	3 g.,98	4 g.,1

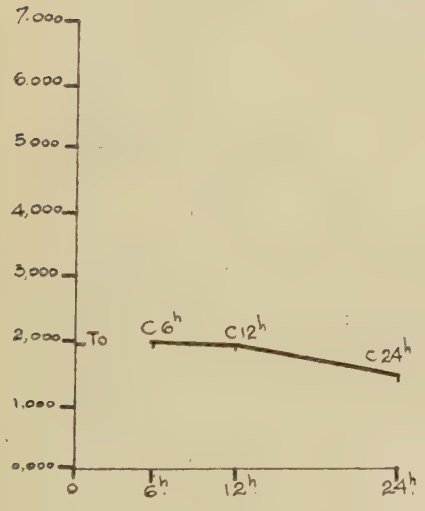
Action prolongée du chloroforme en vapeur saturante sur les graines de Pois ayant subi une germination de 48 heures .



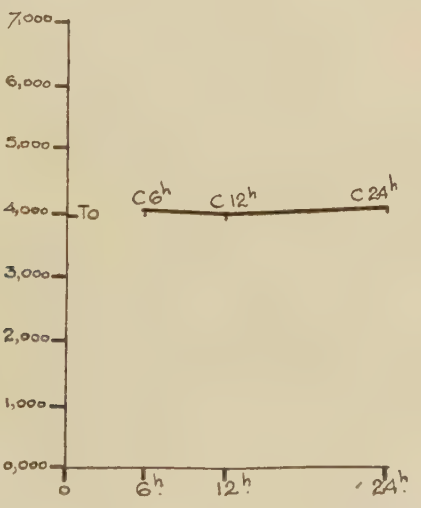
Sucres réducteurs



Stachyose



Saccharose



Amidon

TABLEAU XIX. — Chiffres exprimés en stachyose et en saccharose pour une liqueur dont 100 cm³ représentent 100 g. de graines pesées après la trempe.

	Témoin initial	$CHCl^3$ 6 h.	$CHCl^3$ 12 h.	$CHCl^3$ 24 h.
Sucre réducteur initial	0 g.,162	0 g.,232	0 g.,242	0 g.,355
Saccharose	1 g.,943	1 g.,940	1 g.,904	1 g.,439
Stachyose	0 g.,885	0 g.,906	1 g.,269	1 g.,140

CONCLUSIONS.

Des tableaux et des courbes qui précèdent, on déduit que :

1° Les sucres réducteurs des graines chloroformées vont en s'accroissant avec le temps d'action de l'anesthésique. On constate également que la quantité de sucre réducteur des 3 lots chloroformés est toujours supérieure à celle du lot témoin initial.

2° Le saccharose des graines chloroformées diminue à mesure que la durée de l'anesthésie augmente. Cependant, entre 6 heures et 12 heures, cette diminution est lente ; elle est plus marquée entre 12 heures et 24 heures. On remarque également que les quantités de saccharose du lot témoin initial et du lot chloroformé pendant 6 heures sont à peu près identiques. Chez l'Orge, dans des conditions analogues, le saccharose avait disparu.

3° Le stachyose, dans le lot chloroformé pendant 6 heures est en léger excès par rapport au témoin initial.

Au bout de 12 heures d'action du chloroforme, le stachyose a augmenté, puis au bout de 24 heures, il marque une diminution, assez faible d'ailleurs. Il semble

donc que l'action prolongée du chloroforme a pour effet de faire diminuer le saccharose et le stachyose contenus dans le Pois. Cette action est beaucoup plus sensible pour le saccharose que pour le stachyose, ce dernier commençant à diminuer après un temps plus long d'action de l'anesthésique. Au total, l'hydrolyse de ces osides est de faible intensité.

4° Les quantités d'amidon contenues dans les graines sont à peu près identiques dans les 4 cas. L'amidon ne semble donc pas avoir été touché par le chloroforme dans ces expériences.

Il semble donc que le traitement subi par le Pois ait ici à peu près complètement inhibé toute hydrolyse fermentaire, les variations constatées étant très faibles.

CHAPITRE III.

Action brève du chloroforme en vapeur saturante.

Ces expériences ont été faites sur une autre variété de *Pisum sativum* à graines ridées et vertes : « Le Sénateur ».

Ces expériences ont été conduites de la façon suivante :

Les graines, après avoir subi une trempe de 24 heures dans l'eau froide, sont divisées en 6 lots pesant 100 grammes chacun. Chaque lot est mis sur un germoir à la serre, à une température de 15° à 20°. Au bout de 48 heures de germination, on retire 3 lots, que l'on met sous la cloche à vide à côté de récipients à large ouverture, renfermant du chloroforme. On fait le vide de l'air sous la cloche, et on laisse les graines en vapeur saturante de chloroforme pendant un quart d'heure.

On stabilise alors un lot chloroformé, ainsi qu'un lot témoin laissé à la serre dans les conditions normales. Ce sont les lots C_1 et T_1.

On remet ensuite les lots chloroformés à germer dans la serre dans les conditions normales.

Au bout de 24 heures on stabilise un lot chloroformé en même temps qu'un lot témoin. Ce sont les lot C_2 et T_2.

Au bout de 48 heures, on stabilise le dernier lot chloroformé en même temps que le dernier lot témoin. Ce sont les lots C_3 et T_3.

La germination a continué chez les graines chloroformées.

Ces expériences ont été consignées dans les tableaux et les courbes qui suivent :

TABLEAU XX. — Action du chloroforme en vapeur saturante pendant 1/4 d'heure sur les graines de Pois ayant germé 48 heures et remises à la serre après action de l'anesthésique.

(100 cm³ de liqueur représentent 100 g. de graines pesées après la trempe).

	T_1	C_1	T_2	C_2	T_3	C_3
DEVIATION :						
Initiale	+ 2°20'	+ 3°16'	+ 3°20'	+ 3°40'	+ 4°28'	+ 4°20'
Après invertine	+ 16'	— 20'	+ 8'	— 24'	— 24'	— 28'
Après émulsine	— 12'	— 40'	— 32'	— 1°12'	— 1°	— 1°20'
SUCRES RÉDUCTEURS :						
Initiaux	0 g.,034	0 g.,114	0 g.,095	0 g.,217	0 g. 271	0 g.,271
Après invertine	1 g.,848	2 g.,48	2 g.,774	2 g.,48	4 g.,152	3 g.,612
Après émulsine	2 g.,014	2 g.,648	3 g.,108	2 g.,851	4 g.,51	4 g.,120
ACTION DE L'INVERTINE :						
Recul de la déviation	2°4'	3°36'	3°12'	4°4'	4°52'	4°48'
Sucre réducteur formé	1 g.,814	2 g.,366	2 g.,679	2 g.,263	3 g.,881	3 g.,341
Indice	877	657	837	556	798	696
ACTION DE L'ÉMULSINE :						
Recul de la déviation	28'	20'	40'	48'	36'	52'
Sucre réducteur formé	0 g.,166	0 g.,168	0 g.,334	0 g.,371	0 g.,358	0 g.,508
Indice	355	504	501	463	596	586
DOSAGES D'AMIDON :						
Pour 100 g. de graines trempées	3 g.,96	4 g.,04	3 g.,06	3 g.,66	2 g.,08	2 g.,84

TABLEAU XXI. — Chiffres exprimés en saccharose et en stachyose pour une liqueur dont 100 cm³ représentent 100 g. de graines pesées après la trempe.

	T_1	C_1	T_2	C_2	T_3	C_3
Sucre réduct. initial.	0 g.,034	0 g.,114	0 g.,095	0 g.,217	0 g.,271	0 g.,271
Saccharose	1 g.,569	2 g.,08	2 g.,234	1 g.,804	3 g.,35	2 g.,790
Stachyose	0 g.,313	0 g.,317	0 g.,630	0 g.,700	0 g.,676	0 g.,959

CONCLUSIONS.

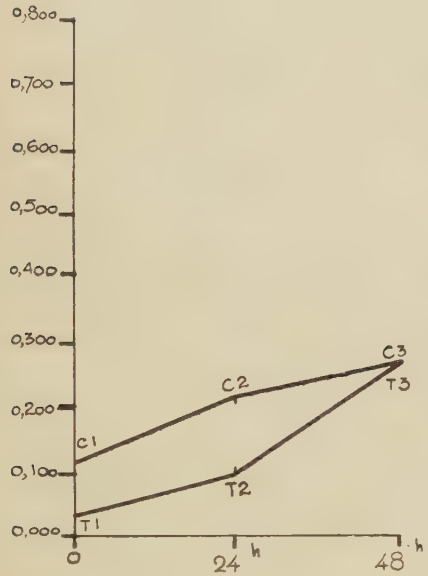
On peut déduire des tableaux et des courbes qui précèdent que :

1° Le sucre réducteur, dans les graines témoins, va en augmentant avec la durée de la germination. Chez les graines chloroformées, le sucre réducteur va également en augmentant continuellement. Ce sucre réducteur se trouve chez C_1 et C_2 supérieur aux témoins correspondants. Après 48 heures, le sucre réducteur est en même quantité chez le lot traité et chez le lot témoin.

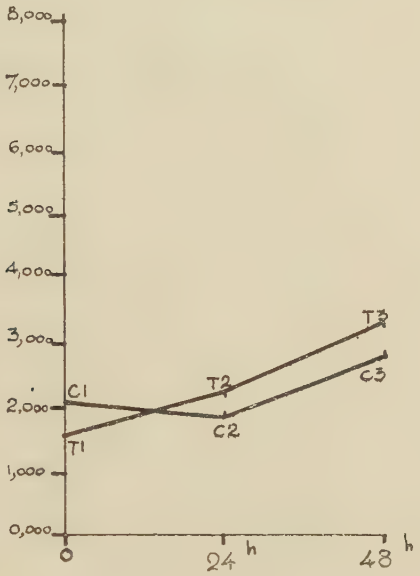
2° Le saccharose va en croissant dans les lots témoins ; dans les lots traités, il diminue au bout de 24 heures pour augmenter au bout de 48 heures. Les variations sont de faible amplitude.

3° Le stachyose augmente légèrement et régulièrement dans les lots témoins avec les temps de germination. Il en est de même dans les lots traités, mais il est à noter que les quantités de stachyose contenues dans ces lots sont toujours un peu supérieures à celles des témoins qui leur correspondent.

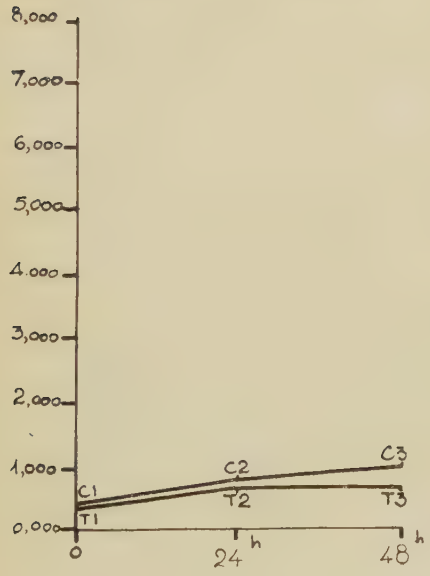
Action du chloroforme en vapeur saturante pendant 1/4 d'heure, sur les graines de Pois ayant germé 48 heures et remises à la serre après l'action de l'anesthésique.



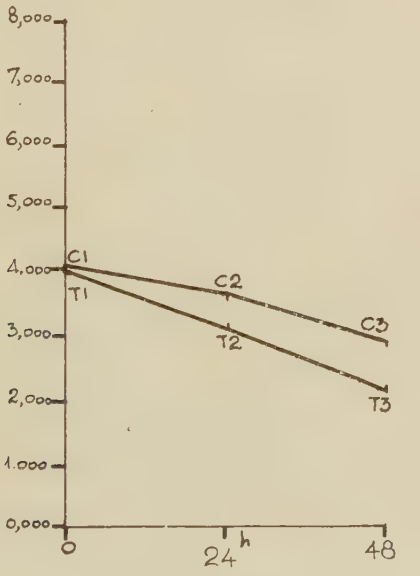
Sucres réducteurs



Saccharose



Stachyose



Amidon

4° Enfin, l'amidon diminue régulièrement dans les témoins, ainsi que dans les lots chloroformés, mais il est à remarquer que cette diminution est plus rapide chez les lots témoins que chez les lots traités.

Ces expériences sur le Pois donnent, au total, des résultats peu sensibles et, comme les expériences sur l'Orge, méritent d'être reprises.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

Les expériences très nombreuses que nous avons rappelées au début de notre travail, montrent qu'un certain nombre d'agents physiques ou chimiques provoquent la plasmolyse des cellules végétales et que celle-ci se traduit par des modifications d'ordre chimique, à l'ensemble desquelles on a donné le nom d'*anatonose*. Ces phénomènes consistent essentiellement dans la dégradation ou le dédoublement de substances à poids moléculaire élevé en produits de poids moléculaire plus faible. Il y aurait là un mécanisme par lequel la cellule tendrait à rétablir la pression osmotique modifiée par la plasmolyse. Parmi les substances susceptibles de subir ce dédoublement, il faut citer au premier rang les hologlucides et les hétéroglucides. Ce dédoublement était parfaitement établi, mais aucun auteur, à notre connaissance, n'avait étudié *quantitativement* les faits. C'est ce que nous nous sommes efforcé à faire chez certains organes végétaux. Nos travaux ont porté sur des feuilles, des écorces et des graines.

I. — FEUILLES ET ÉCORCES.

Les expériences ont été faites sur des feuilles d'*Aucuba* et de Troène et sur l'écorce de Marronnier.

Les résultats obtenus sont les suivants :

1° Sous l'influence des agents chimiques employés, les sucres réducteurs libres des feuilles et des écorces subissent toujours une augmentation.

2° Les osides hydrolysables par l'invertine, dans les plantes, subissent un dédoublement sous l'influence des

agents chimiques utilisés dans nos expériences. Cette action est toujours moins marquée que pour les hétérosides.

Le chloroforme agit avec beaucoup plus de rapidité sur les osides hydrolysables par l'invertine, à la pression ordinaire qu'en vapeur saturante, contrairement à ce qui se passe pour les hétérosides.

3° Le chloroforme, agissant sur les feuilles d'*Aucuba* et de Troène, dédouble avec beaucoup plus de rapidité les hétérosides qu'elles contiennent en vapeur saturante qu'à la pression ordinaire.

Les vapeurs de chloroforme, d'éther et de benzène, agissant dans les mêmes conditions sur les feuilles d'*Aucuba*, il a été démontré que c'est le chloroforme qui dédouble le plus rapidement l'aucuboside ; viennent ensuite, par ordre d'activité décroissante, l'éther et le benzène.

Le chloroforme agissant en vapeur saturante sur l'écorce de Marronnier, les hétérosides qu'elle contient se sont montrés beaucoup plus résistants que ceux des feuilles. Cette différence d'action peut être due à la pénétration plus difficile du chloroforme à travers les tissus de l'écorce, plus compacts que ceux des feuilles. On peut aussi attribuer le faible dédoublement de ces hétérosides à la présence dans l'écorce de Marronnier d'un tanin, l'acide esculitannique qui exercerait une action inhibitrice sur l'émulsine.

4° Au cours de ces recherches, nous avons été amené à envisager l'existence possible, chez les feuilles d'*Aucuba*, d'osides dédoublables par l'invertine et différents du saccharose.

II. — GRAINES.

Les expériences ont été faites sur l'Orge et deux espèces de Pois à graines ridées et vertes, en germination. Pour l'Orge et le Pois, il a été fait deux séries d'expériences ;

une série où le chloroforme agissait continuellement et un assez long temps sur les graines, une autre série où les graines ayant subi une courte action du chloroforme, étaient remises à germer dans les conditions normales.

Les résultats obtenus sont les suivants :

1° Les sucres réducteurs initiaux croissent avec la durée de l'anesthésie, dans l'Orge et le Pois en germination ayant subi l'action prolongée du chloroforme ; ces sucres sont toujours plus abondants chez les graines anesthésiées que chez les graines témoins.

Les sucres réducteurs de l'Orge ayant subi une brève action du chloroforme et remis en germination, croissent avec le temps de germination et sont toujours supérieurs aux sucres réducteurs des témoins. Au bout de 24 heures, chez le Pois chloroformé et remis à germer, les sucres réducteurs sont supérieurs à ceux du témoin ; au bout de 48 heures les sucres réducteurs sont en mêmes quantités dans le lot traité et dans le lot témoin.

2° Le saccharose, dans l'Orge et le Pois en germination, diminue sous l'action prolongée du chloroforme. Au bout de 24 heures il a complètement disparu dans l'Orge ; chez le Pois la diminution est plus lente, moins marquée.

Dans les expériences où l'Orge a subi peu de temps l'influence du chloroforme et a été remis à germer, le saccharose continue à diminuer pour disparaître finalement. Chez le Pois ayant subi le traitement analogue, le saccharose diminue au bout de 24 heures pour augmenter au bout de 48 heures.

Dans toutes les expériences, le saccharose, chez les graines témoins, va en croissant avec le temps de germination.

3° Le stachyose contenu dans le Pois soumis à l'action prolongée du chloroforme, augmente jusqu'au bout de 12 heures d'action du chloroforme, pour diminuer ensuite.

Dans les graines ayant subi une courte action de

l'anesthésique et remises en germination, le stachyose augmente régulièrement avec le temps de germination. Ce phénomène a lieu également dans les graines témoins, mais il est moins accentué.

4° Chez l'Orge et le Pois, ayant subi une action prolongée du chloroforme, l'amidon ne varie pas ; il diminue au contraire dans les témoins qui germent normalement.

Chez le Pois, ayant subi une courte action du chloroforme et remis en germination, l'amidon diminue plus rapidement dans les lots témoins que dans les lots chloroformés. Chez l'Orge ayant subi le traitement analogue, on constate que l'amidon, pendant 24 heures, diminue plus vite dans le lot témoin que dans le lot chloroformé ; mais au bout de 48 heures et de 72 heures, l'amidon se retrouve peu à peu en mêmes quantités dans les lots témoins et dans les lots traités.

Ces expériences sur les graines en germination n'ont pu être poursuivies. Les résultats obtenus peuvent cependant être utilisés comme point de départ de nouvelles recherches. Ils témoignent de l'influence incontestable des anesthésiques sur les phénomènes d'utilisation des réserves.

Nous espérons que ce travail, que nous concevons comme la première étape de recherches plus étendues, apportera, à l'étude de la question des modifications chimiques des tissus végétaux sous l'influence de la narcose, une contribution utile.

Vu, bon à imprimer :
Le Président de la Thèse,
EM. PERROT.

Vu :
Le Doyen de la Faculté,
P. GUÉRIN.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLÉTY.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

1. Ancel (Mlle S.). — Les rayons X appliqués sur des graines sèches n'ont aucune influence sur l'époque d'apparition du germe. *Bull. Soc bot. de France,* 1925, **72**, 195-199.

2. Arcichovskij (V.). — Die Wirkung der Giftstoffe verschiedener Konzentrationen auf die Samen. *Biochem. Zeitschr.*, 1913, **50**, 233-244.

3 Atwood (W. M.). — Physiological Studies of Effects of Formaldehyde on Wheat. *Botan. Gazette,* 1922, **74**, 233-263.

4 Bertrand (Gabriel). — Le dosage des sucres réducteurs. *Bull. Soc. Chim. de Fr.*, 1906, (4e s.), **25**, 1285-1299, Id. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1907, **14**, 7.

5. Bokorny (Th). — Einwirkung einiger basischer Stoffe auf Keimpflanzen, Vergleich mit der Wirkung auf Mikroorganismen. *Centralbl. für Bakteriol.*, 1911-1912, **32**, 587-605.

6. Bokorny (Th.). — Ueber den Einfluss verschiedener Substanzen auf die Keimung der Pflanzensamen. Wachstumsförderung durch einige. *Biochem. Zeitschr.*, 1913, **50**, 148.

7. Bourdier (L.). — Sur la présence de l'aucubine dans les différentes espèces du genre *Plantago. Journ. Pharm. et Chim.*, 1907, (6e s.), **26**, 254.

8. Bourdouil (Mlle C.). — Sur une méthode biochimique de dosage de l'amidon dans les plantes. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1931, **13**, 809.

9. Bourquelot (Em.). — Sur l'emploi des enzymes comme réactifs. II. Enzymes hydratants (hydratases). *Journ. Pharm. et Chim.*, 1907, (6e s.), **25**, 378-392.

10 Bourquelot (Em.). — Recherche, dans les végétaux, du sucre de canne à l'aide de l'invertine et des glucosides à l'aide de l'émulsine. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1901, (6e s.), **14**, 481-487.

11. Bourquelot (Em.). — Sur la recherche, dans les végétaux, des glucosides hydrolysables par l'émulsine. *Journ Pharm. et Chim.*, 1906, (6e s.), **23**, 369 375.

12. Bourquelot (Em.). — Nouvelle contribution à la méthode biochimique de recherche, dans les végétaux, des glucosides hydrolysables par l'émulsine ; son application à l'étude des plantes employées en médecine populaire. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1910, (7e s.), **2**, 241-248.

13. Bourquelot (Em.) et Bridel (M.). — Sur la recherche du raffinose dans les végétaux Sa présence dans deux graines de Légumineuses : *Erythrina fusca* Lour. et *Entada scandens* Benth. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1909, (6e s.), **30**, 162-167.

14. Bourquelot (Em.) et Hérissey (H.). — Sur un glucoside nouveau, l'aucubine, retiré des graines d'*Aucuba japonica*. *C. R. Ac. Sc.*, 1902, **134**, 1441.

15. Bourquelot (Em.) et Hérissey (H.).— Nouvelles recherches sur l'aucubine. *C. R. Ac. Sc.*, 1904, **138**, 1114.
Id *C. R. Soc. Biol.*, 1904, **56**, 655.

16. Bourquelot (Em.) et Hérissey (H.). — Sur l'aucubine, glucoside de l'*Aucuba japonica* *Ann. Chim. Phys.*, 1905, (8), **4**, 289-318.

17. Brachin (M.). — Recherches sur la lactase. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.) Paris*, 1904, 36.

18 Braecke (Mlle M.). — Sur la présence d'aucubine et de mélampyrite dans plusieurs espèces de Mélampyres. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1923, **5**, 207-215.

18 bis. Braecke (Mlle M.). — Sur la présence d'aucubine et de mannite dans les tiges foliées du *Rhinanthus Crista-Galli* L. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1923, **5**, 258-262.

19 Bridel (M.).— Recherches sur les variations de coloration des plantes au cours de leur dessiccation. Le glucoside

du *Lathræa Clandestina* L. est l'auçuboside (aucubine). *Journ. Pharm, Chim.*, 1929, (8e s.), **10**, 97-110.

19 bis. Bridel (M.) et Bourdouil (Mlle C.) — Sur l'évolution des glu ides au cours de la formation de la graine de deux variétés de Pois. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1932, **14**, 214.

20. Bridel (M.) et Braecke (Mlle M.).— Sur la présence d'aucubine et de saccharose dans les graines de *Rhinanthus Crista-Galli* L. — Rhinanthine et aucubine. La rhinanthine est de l'aucubine impure. *Bull. Soc. Chim biol.*, 1923, **5**, 10-22.

21. Charaux (C.). — Sur la présence de l'aucubine dans les graines de *Veronica hederæfolia* L. *Bull Soc. Chim. biol.*, 1928, **10**, 1111.

22. Denny (F. E.). — Hastening the sprouting of dormant Potato tubers. *Amer. Journ. of Bot*, 1926, **13**, 118-125.

23. Denny (F. E.). — Second report on the use of chemicals for hastening the sprouting of dormant Potato tubers. *Amer. Journ. of Bot.*, 1926, **13**, 386-396.

24. Denny (F. E.).— Chemical changes induced in Potato tubers by treatments that break the rest period. *Amer. Journ, of Bot.*, 1929, **16**, 326-337.

25. Denny (F. E.). — Sucrose and starch change in Potatoes treated with chemicals that break the rest period *Amer. Journ. of Bot.*, 1930, **17**, 806-817.

26. Fichtenholz (Mlle A.). — Application de la méthode biochimique à l'analyse de la Busserole *Journ Pharm. et Chim.*, 1911, (7e s.), **4**, 441-446.

27. Goris (A.). — Localisation et rôle des alcaloïdes et des glucosides chez les végétaux. *Thèse d'agrégation*, Paris, 1914, 296-300.

28. Guérin (P.). — L'action des anesthésiques, du froid et des rayons ultra-violets sur certaines plantes. *Rev. Scient.*, 1910, **48**, 804-807.

29. Guérin (P.). — L'action du chlore et de certaines vapeurs sur les plantes supérieures. *Ann. Science agron franç. et étr.*, 1921, **38**, 10.

30. Guérin (P.) et Goris (A.). — Une nouvelle plante à coumarine : *Melittis Melissophylum* L. *C. R. Ac. Sc.*, 1920, **170**, 1067.

31. Guérin (P.) et Lormand (Ch.). — Action du chlore et de diverses vapeurs sur les végétaux. *C. R. Ac. Sc*, 1920, **170**, 401.

32. Guérin (P.) et Lormand (Ch.). — Action plasmolysante d'un certain nombre de vapeurs. *C. R. Ac. Sc.*, 1920, **170**, 1598.

33. Guignard (L.). — Influence de l'anesthésie et du gel sur le dédoublement de certains glucosides chez les plantes. *C. R. Ac. Sc.*, 1907, **149**, 91.

34. Heckel (E.). — Influence des anesthésiques et du gel sur les plantes à coumarine. *C. R. Ac. Sc.*, 1909, **149**, 829.

35. Heckel (E.). — De l'action du froid et des anesthésiques sur les feuilles de l'*Angræcum fragrans* Thou. (Faham) et sur les gousses vertes de la vanille. *C. R Ac. Sc.*, 1910 **151**, 128.

36. Heckel (E.). — De l'action du froid, du chloroforme et de l'éther sur l'*Eupatorium triplinerve* Vahl (Aya-pana). *C. R. Ac. Sc.*, 1911, **152**, 1825.

37. Hérissey (H.). — Recherches sur l'émulsine. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.) Paris*, 1899.

38. Hérissey (H.) et Lebas (C.). — Présence de l'aucubine dans plusieurs espèces du genre *Garrya*. *Journ. Pharm, Chim.*, 1910, (7e s.), **2**, 490-494.

39 Hérissey (H.) et Sibassié (R.). — Recherches biochimique sur la nature et la quantité des principes hydrolysables par l'invertine et par l'émulsine, contenus dans quelques graines de Légumineuses. *Bull. Soc. Chim. biol*, 1924, **6**, 759.

40. Hesse (O.). — Ueber die Keimungsauslösende Wirkung chemischer Stoffe auf lichtempfindliche Samen. *Ber. der deutsch. bot. Ges.*, 1923, **41** 316-322.

41. Kariyone (T.) et Kondo (K.). — Untersuchungen über Aucubin. *J. Pharm. Soc. Japan.*, 1928, **48**, 679-684.

42. Jesenko (Fr.). — Einige neùe Verfahren, die Ruheperiode der Holzgewächse abzùkürzen. *Ber. der deutsch. bot. Ges.*, 1911, **29**, 273.

43. Kidd (F.). — The Controlling Influence of Carbon Dioxide in the Maturation, Dormancy, and Germination of Seeds. *Roy. Soc. Proceed.*, 1913-1914, B. **87**, 408 421 et 609-625.

44. Kœrnicke (M.) — Weitere Untersuchungen über die Wirkung von Röntgen und Radium Strahlen auf die Pflanzen. *Ber. der deutsch. bot. Ges.*, 1905, **23**, 324-333.

45 Kœrnicke (M.). — Ueber die Wirkung von Röntgen und Radium Strahlen auf pflanzliche Gewebe und Zellen. *Ber. der deutsch. bot. Ges*, 1905, **23**, 404-415.

46. Kommerell (E.). — Quantitative Versuche über den Einfluss des Lichtes verschiedener Wellenlängen auf die Keimung der Samen. *Jarhb. f. wiss. Bot.*, 1927, **66**, 461-512.

47. Lebas (C.). — Dosage de l'aucubine dans les divers organes de l'*Aucuba japonica, Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1911.

48. Macht (D.). — Concerning the influence of polarized light on the growth of seedlings. *Journ. gen. Physiol.*, 1926, **10**, 41-52.

49. Maquenne (L.) et Demoussy (E). — Influence des rayons ultra-violets sur la végétation des plantes vertes. *C. R. Ac. Sc.*, 1909, **149**, 759.

50. Maquenne (L.) et Demoussy (E.). — Sur le noircissement des feuilles vertes. *C. R. Ac. Sc.*, 1909, **149**, 957.

51. Maquenne (L.) et Demoussy (E.). — Le noircissemen post-mortal des feuilles. *Rev. gén. Sc.*, Mars 1910, 196-203.

52. Maquenne (L.) et Demoussy (E.). — Observation sur la résistance des végétaux à l'asphyxie. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1921, **3**, 273.

53. Maquenne (L.) et Demoussy (E.)— Résistance des feuilles à l'asphyxie. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1922, **4**, 571.

54 Micheels (H.) et De Heen (P.). — Influence du radium sur l'énergie respiratoire des graines en germination. *Bull. A. Sc. Acad. Roy., Belg., Classe des Sciences*, 1905, **7**, 29-34.

55. Miège (E.). — Action de la chloropicrine sur la faculté germinative des graines. *C. R. Ac. Sc.*, 1921, **172**, 170.

56. Mirande (M.). — Influence exercée par certaines vapeurs sur la cyanogenèse végétale. Procédé rapide pour la recherche des plantes à acide cyanhydrique. *C. R. Ac. Sc.*, 1909, **149**, 140.

57. Mirande (M.). — De l'action des vapeurs sur les plantes vertes. *C. R. Ac. Sc.*, 1910, **151**, 481.

58. Nadson (G.) et Jolkevitch (A.). — L'action combinée du radium et des agents chimiques sur les végétaux. *Annales de Rœntgenologie et Radiologie*, 1926, **2**, 11-39.

59. Niethammer (A.). — Der Einfluss von den Reizchemikalien auf die Samenkeimung. *Jahrb. f. wiss. Bot*, 1927, **67**, 223-241.

60. Petit (P.). — Brasserie et Malterie. Gauthier-Villars, édit., Paris, 1904.

61. Picado (C.) et Vincente (E.). — Influence des rayons X sur la germination des graines. *Arch. de Physique biol.*, Paris, 1924, **3**, 13-16.

62. Piskernik (A.). — Ueber die Einwirkung fluoresziender Farbstoffe auf die Keimung der Samen. *Sitzber. d. Akad. d. wiss. in Wien*, 1921, **130**, 189-214.

63 Popoff (M.). — Zell und Saatstimulation und die Reiz und Düngunsverfahren. *Biolog. Zentrabl.*, 1924, **44**, 458-463.

64. Pougnet (J.). — Actions physiques, chimiques et biologiques des rayons ultra-violets. *Thèse Doct. Univ.* (*Pharm.*), Paris, 1922.

65. Rabaté (J.). — Contribution à l'étude chimique et physiologique de l'Amelanchier (*Amelanchier vulgaris* Moench). *Thèse Doct. Univ.* (*Pharm.*), Paris, 1931.

66. Radoëff (A.). — Recherches sur la stimulation de la croissance et le métabolisme dans les tissus du Blé. *C. R. Ac. Sc.*, 1932, **194**, 1527.

67. Radoëff (A.). — Stimulation de la croissance par des sels minéraux, des colorants vitaux et divers composés organiques chez le Riz. *C. R. Soc. Biol.*, 1932, **110**, 955.

68. Semmens (E. S.). — Hydrolysis in the living plants by polarized light. *Bot. Gaz.*, 1930, **90**, 412-416.

69. Tanret (Ch.). — Sur la lévosine, nouveau principe immédiat des céréales. *C. R. Ac. Sc.*, 1891, **112**, 293.

70. Tanret (G.). — Sur la présence du stachyose dans le Haricot et les graines de quelques autres Légumineuses. *Bull. Soc. Chim.*, 1913, (4), **13**, 176.

71. Vintilesco (J.). — Glucosides des Oléacées. *Thèse Doct. Univ.* (*Pharm.*), Paris, 1906.

72. Weber (Fr.). — Methoden des Frühtreibens von Pflanzen. in : Abderhalden (Em.) : *Arbeitsmethoden*, Berlin, 1924, **XI**, I, 591-628.

73. Wernhart (K.). — Influence des rayons X sur la germination et sur la croissance des végétaux. *C. R. Soc. Biol.*, 1927, **96**, 1090-1091.

74. Wientjes (K.). — Accélération de la germination sous l'influence des acides. *Rec. Trav. bot. néerlandais*, 1920, **17**, 1-2.

75. Zwenger (C.). — Ueber das Aesculin. *Ann der Chem. und Pharm.*, 1854, **90**, 63.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

Introduction 7

PREMIÈRE PARTIE.

Expériences sur l'*Aucuba japonica* Thunb..... 17

Chapitre I — Composition de l'*Aucuba* et détails sur la marche des expériences..... 17

Chapitre II. — Action du chloroforme à la pression ordinaire 25

Chapitre III. — Action du chloroforme en vapeur saturante 29

Chapitre IV. — Action de l'éther en vapeur saturante..... 34

Chapitre V. — Action du benzène en vapeur saturante..... 37

Chapitre VI. — Dosages pondéraux d'aucuboside.. 40

DEUXIÈME PARTIE.

Expériences sur le Troène..... 49

Chapitre I. — Composition du Troène et détails sur la marche des expériences 49

Chapitre II. — Action du chloroforme à la pression ordinaire 55

Chapitre III. — Action du chloroforme en vapeur saturante 58

TROISIÈME PARTIE.

Expériences sur l'écorce de Marronnier..... 63

Chapitre I. — Composition de l'écorce de Marronnier et détails sur la marche des expériences. . 63

Chapitre II. — Action du chloroforme en vapeur saturante 68

QUATRIÈME PARTIE.

Expériences sur l'Orge 73

Chapitre I. — Etude chimique de l'Orge et détails sur la marche des expériences 73

Chapitre II. — Action prolongée du chloroforme en vapeur saturante..... 79

Chapitre III. — Action brève du chloroforme en vapeur saturante..... 83

CINQUIÈME PARTIE.

Expériences sur les Pois 89

Chapitre I. — Composition du Pois et détails sur la marche des expériences 89

Chapitre II. — Action prolongée du chloroforme en vapeur saturante..... 97

Chapitre III. — Action brève du chloroforme en vapeur saturante..... 102

Conclusions générales..... 107

Index bibliographique 111

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE M. DECLUME, LONS-LE-SAUNIER.